Т. Р. ПАРСОНС

ОСНОВЫ БИОХИМИИ В ПРИЛОЖЕНИИ К ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА

НАРКОМЗДРАВ СССР
ИЗДАТЕЛЬСТВО
1939

Т.

ОСНОВ

В ПР

ФИЗИОЛ

АВТОРИЗОВАННЫЙ

ПРОФ

ГОСУ

М

Т. Р. ПАРСОНС

ОСНОВЫ БИОХИМИИ В ПРИЛОЖЕНИИ К ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА

ВТОРОЕ ИЗДАНИЕ

АВТОРИЗОВАННЫЙ ПЕРЕВОД с 5-го АНГЛИЙСКОГО ИЗДАНИЯ
ПОД РЕДАКЦИЕЙ
ПРОФ. В. А. ЭНГЕЛЬГАРДТА

НАРКОМЗДРАВ СССР
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
МЕДИЦИНСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
«МЕДГИЗ»
МОСКВА — ЛЕНИНГРАД
1938

FUNDAMENTALS OF BIOCHEMISTRY

IN RELATION TO HUMAN PHYSIOLOGY

BY

T. R. PARSONS

Редактор *Б. Степаненко*. Техред *И. Кузьмин*. Зав. граф. ч. *Е. Смехов*. Зав. коррект. *Л. Голицына*. Ответ. за вып. в типогр. *П. Маркелов*.

Уполномоченный Главлита Б 55303. Медгиз 28. МД4б. Тираж 5000. Формат 60×92 1/16. Печ. л. 15 1/2+1/8. Знак. в печ. л. 46570. Авт. л. 18,19. Сдано в тип. 11/II 1938 г. Подп. к печ. 14/XI 1938 г. Заказ 302. Цена 5 р. 30 к. Переплет 1 р. 20 к.

16-я типография треста «Полиграфкнига», Москва, Трехпрудный пер., д. 9.

ПРЕДИСЛОВИЕ АВТОРА КО ВТОРОМУ РУССКОМУ ИЗДАНИЮ

Мне доставило большую радость, когда моя книга впервые была переведена на русский язык; теперь, когда выходит в свет второе издание моей книги, я чувствую себя польщенным и удовлетворенным, что эта книга оказалась полезной русскому читателю. Как следовало ожидать, второе издание больше первого, так как биохимия сделала в последние годы значительные успехи, и даже те стороны предмета, которые мы считаем основными, стали значительно более обширными. Об этом не приходится, однако, сожалеть, ибо что может быть важнее и в то же время интереснее, чем изучение состава, строения и поведения материалов, из которых состоит живая природа? Медицина, агрономия, гигиена, диэтетика—все эти науки зависят в своем будущем развитии от развития биохимии, и если эта книга, хотя бы в некоторой степени, будет помогать молодым работникам Советского Союза, будет побуждать их работать все дальше, то она достигнет цели, которую ставил себе автор.

Т. Р. Парсонс

Англия, Кембридж, летом 1938.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Глава I. Природа живой материи. Структура белков 5
Глава II. Главные разновидности белка, их свойства и взаимоотношения 20
Глава III. Переваривание белков 27
Глава IV. Обмен белков; использование аминокислот в организме 33
Глава V. Обмен белков (продолжение); продукты распада тканей — креатинин, нейтральная сера 45
Глава VI. Превращения азота в организме как целом; азотистое равновесие; белковое голодание; использование отдельных аминокислот 51
Глава VII. Биохимия пуринов: нуклеопротеиды, мочевая кислота 61
Глава VIII. Жиры и их обмен; лецитин, холестерин 70
Глава IX. Химия углеводов; переваривание крахмала и сахара . . 84
Глава X. Потребление углеводов. Химический механизм мышечного сокращения 101
Глава XI. Патология углеводного обмена; глюкозурия, диабет . . . 113
Глава XII. Человеческий организм как машина. Его потребность в горючем и баланс энергии 123
Глава XIII. Ферменты и катализаторы окисления 144
Глава XIV. Добавочные пищевые факторы, или витамины 161
Глава XV. Защитные синтезы 172
Глава XVI. Пигменты животного организма 176
Глава XVII. Дыхательный газообмен 185
Глава XVIII. Некоторые приложения физической химии: давление газов, осмотическое давление 199
Глава XIX. Дальнейшие приложения физической химии. Коллоиды. Адсорбция. Реакция тканевых жидкостей. Функции электролитов. 207

ГЛАВА I

ПРИРОДА ЖИВОЙ МАТЕРИИ. СТРУКТУРА БЕЛКОВ

Мы начнем изучение химических процессов, происходящих в живом организме, с рассмотрения свойств и поведения самых важных характерных веществ, входящих в состав всех клеток и тканей, а именно с белковых веществ, или протеинов (греч. protos—первый).

Таким образом, уже с первых же шагов мы будем иметь дело с веществами, которые представляют наибольший интерес для биохимиков, ибо вся та совокупность явлений, которая обозначается термином «жизнь», осуществляется материей, состоящей в главной своей массе именно из белков, и никогда не проявляется в их отсутствии. Конечно, в такой сложной системе, как живая ткань, кроме протеинов, имеются многие другие вещества, например, крахмал, сахар, жиры и т. д., которыми химик-органик тоже интересуется, но все они имеют второстепенное значение и являются скорее резервными материалами, рано или поздно потребляемыми живым веществом, чем его основными, структурными частями.

Лет сто назад датский физиолог Мульдер, пытаясь выделить наиболее важные составные части живой материи, изолировал из различных биологических источников сложное азотсодержащее вещество, которому он дал название «протеин». Сначала он думал, что существует только одна субстанция—«протеин», соединения которой с другими веществами и являются настоящими составными частями различных тканей, но скоро стало ясно, что мышцы, кровь, растительные ткани, словом, каждый особый вид ткани или организма обладает своими собственными специфическими белками, которые можно разделить и классифицировать, использовав их различную растворимость в солевых растворах и т. п.

Дальнейшее изучение протеинов оказалось делом нелегким. Обычно, когда химик приступает к изучению свойств и структуры какого-либо вещества, он стремится прежде всего получить его в чистом виде дестилляцией, если это жидкость, или кристаллизацией, если это твердое вещество. В случае протеинов мы имеем, однако, дело с субстанциями, чрезвычайно склонными к изменениям. В самом деле, если бы они не обладали такой выраженной наклонностью к изменению, они не были бы приспособлены к ро-

ли главной составной части живой ткани, каждое проявление которой—изменение в самом существе, переход от покоя к деятельности, от юности к старости, от здоровья к болезни и смерти...

Но именно эта склонность к изменениям и является главным источником затруднений при изучении протеинов. Возьмите раствор белка, нагрейте его до температуры, немного превышающей температуру тела, и тотчас произойдут необратимые процессы разрушения; подкислите немного раствор или подщелочите его, и первоначальный белок распадется. Достаточно вспомнить о свойствах яичного белка, который состоит главным образом из яичного альбумина, представить эту вязкую, слизистую, некристаллизующуюся жидкость, превращающуюся в белую непрозрачную массу под влиянием самых незначительных повышений температуры, чтобы понять всю серьезность препятствий, на которые наталкивается изучение молекулярной структуры типичных протеинов. Яичный альбумин принадлежит к числу тех немногих белков, которые получены в виде кристаллов; но такой способ получения белков, возможный только при очень точном проведении осаждения, слишком ограничен в своем применении, чтобы стать обычным методом их очистки; огромное же большинство самых разнообразных белков, выделенных из органов и жидкостей тела животных и из тканей растений, известно лишь в виде аморфных порошков. Обычное состояние белка в растворе не благоприятствует образованию своеобразной структуры кристаллов. Таким образом, мы сталкиваемся с огромными трудностями при получении отдельных белков в достаточно чистом состоянии; поэтому результаты наших анализов, проводимых точными методами сожжения органических веществ, можно расценивать в большинстве случаев лишь как качественные. Благодаря такого рода анализам мы все же знаем, что около половины веса белков составляет углерод и около одной шестой—азот.

Наши сведения о химической структуре белка были получены главным образом при изучении продуктов расщепления протеинов. Структура белков слишком сложна, слишком «деликатна», чтобы ее можно было изучать в целом нашими современными, довольно грубыми методами; единственно, что мы в состоянии сделать,—это попытаться восстановить первоначальную картину путем изучения тех обломков молекулы, которые возникают, когда мы подвергаем белок глубокому расщеплению. Самый легкий способ, при помощи которого белок может быть расщеплен на более простые и точно определимые субстанции,—это кипячение его с разведенной соляной кислотой. Предположим, например, что мы берем некоторое количество яичного альбумина и кипятим его несколько часов с разведенной соляной кислотой, применяя обратный холодильник; постепенно типические свойства яичного альбумина исчезают, и получается смесь продуктов расщепления альбумина. Если же теперь мы поинтересуемся продуктами, находящимися в растворе, то найдем, что белок распался почти полностью на смесь соединений, принадлежащих к группе аминокис-

лот; наряду с ними образовалось лишь небольшое количество аммиака и пока еще неидентифицированных веществ. Напомним здесь, что представляют собой аминокислоты. Они тесно связаны с рядом насыщенных жирных кислот, начинающимся муравьиной кислотой

$$H \cdot COOH.$$

Вторым членом ряда является уксусная кислота

$$CH_3 \cdot COOH$$

и третьим—пропионовая кислота

$$CH_3 \cdot CH_2 \cdot COOH.$$

Название последней (от греческого protos—первый и pion—жир) указывает на ее свойства: в то время как муравьиная и уксусная кислоты смешиваются с водой во всех отношениях, пропионовая кислота в отличие от этих более простых членов ряда высаливается хлористым кальцием и образует при этом на поверхности воды жирный слой. Упомянем еще о следующем члене ряда, именно о масляной кислоте

$$CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH,$$

которая встречается в жире масла.

Аминокислота—это кислота, в молекуле которой водородный атом радикала замещен аминогруппой NH_2. Мы говорим о водородном атоме радикала, потому что COOH-группа должна остаться нетронутой в качестве характерной группы аминокислот, как и вообще всех органических кислот. Эти кислоты интересуют нас потому, что самые важные продукты расщепления белковой молекулы являются аминопроизводными перечисленных выше жирных кислот. Так, из уксусной кислоты мы получаем аминоуксусную кислоту

$$NH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH,$$

которую обычно называют глицин, или гликокол, за ее сладкий вкус (от греческого glycos—сладкий).

Обращаясь к формуле пропионовой кислоты, мы прежде всего обращаем внимание на то, что аминогруппу можно присоединить или на место одного из водородных атомов группы CH_2 и получить

$$CH_3 \cdot CHNH_2 \cdot COOH,$$

или же заместить ею один из водородов конечной группы CH_3, так что будем иметь:

$$NH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH.$$

Таким образом, теоретически рассуждая, мы можем иметь две различные аминокислоты, отличающиеся друг от друга химической структурой и свойствами. И действительно, оба эти соединения хорошо известны. Для того чтобы подчеркнуть различие между

такими родственными соединениями и указать положение аминогруппы или какой-либо другой группы в молекуле, принято обозначать углеродные атомы, образующие прямую цепь, греческими буквами алфавита. Кроме того, первым условились считать углерод, ближайший к характерной группе молекулы. В случае кислот такой группой будет группа COOH, так что, согласно номенклатуре, атомы в молекуле пропионовой кислоты будут обозначены следующим образом:

$$\overset{\beta}{CH_3}\cdot\overset{\alpha}{CH_2}\cdot COOH.$$

Для более длинных углеродных цепей употребляются дальнейшие буквы греческого алфавита. Таким образом, упомянутые выше две формы аминопропионовой кислоты мы обозначим как

$$\underset{\alpha\text{-аминопропионовая кислота}}{CH_3\cdot CHNH_2\cdot COOH}$$

и

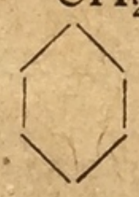
$$\underset{\beta\text{-аминопропионовая кислота}}{NH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot COOH.}$$

Если обе эти субстанции более или менее одинаково интересны для химика-органика, то для биохимика они далеко не равноценны; биохимик мало заинтересован в β-форме, так как она, хотя и не вполне отсутствует в организме, но в продуктах расщепления белков не обнаруживается. В противоположность этому α-аминокислота с нашей точки зрения имеет огромное значение и получила даже специальное название—а л а н и н.

Было установлено, что все аминокислоты, возникающие при распаде белка, являются α-аминокислотами, т. е. аминогруппа в их молекуле всегда присоединена к углероду, ближайшему к карбоксильной группе. Имеются аминокислоты, содержащие более чем одну аминогруппу (например, диаминокислоты); в них аминогруппы присоединены также и к другим углеродным атомам, но и здесь все-таки одна из групп находится в α-положении.

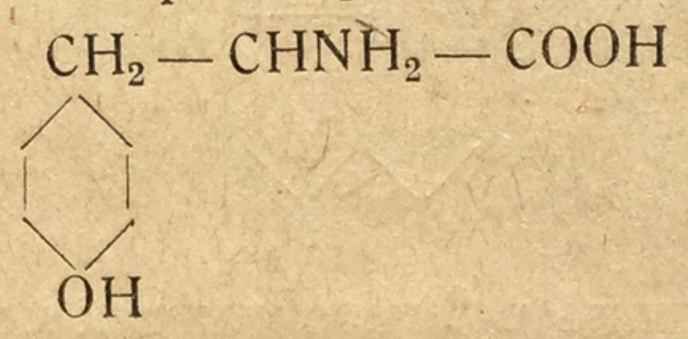
Вернемся, однако, к аланину. Эта аминокислота имеет большое значение не только потому, что она безусловно всегда встречается в качестве составной части белковой молекулы, но и потому, что аналогичную роль играют и многие ее производные. Если мы введем в молекулу аланина группу фенила[1] C_6H_5 в β-положение, то получим ф е н и л а л а н и н

$$CH_2\cdot CHNH_2\cdot COOH$$



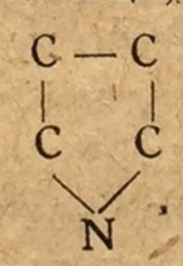
[1] Едва ли нужно напоминать, что шесть углеродных атомов фенильной группы образуют кольцо, которое обычно изображают в виде шестиугольника. Каждый угол шестиугольника представляет углеродный атом. Предполагается, что к каждому углу (т. е. к каждому атому углерода) присоединен водородный атом, если на этом месте не фигурирует какая-либо

Фенилаланин также является обычной составной частью белка. Если в молекуле фенилаланина водородный атом, присоединенный к углероду, находящемуся в пара-положении по отношению к боковой цепи аланина, заменить группой OH, то получается формула α-амино-β-оксифенилпропионовой кислоты:

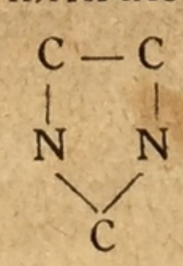


более распространенное название которой тирозин. Это название произошло от греческого слова tiros, что означает сыр, и связано с тем, что тирозин впервые был получен Либихом еще в 1846 г. при нагревании сыра с поташом. Несомненно, что при этом опыте Либиха произошло расщепление главного белка молока казеина на составляющие его аминокислоты, из смеси которых удалось выделить тирозин вследствие его стабильности и относительной нерастворимости. Существуют и другие производные аланина, которые входят в состав белка. Так, мы только что

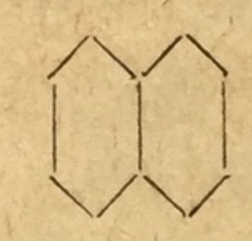
другая группа. Существуют не только кольца, состоящие из 6 углеродных атомов, но имеются и кольца с 4 и 5 углеродными атомами. Кроме этих колец, образованных исключительно из атомов углеродов, имеются и кольца, содержащие один или более атомов других элементов. Во многих таких кольцах, называемых гетероциклическими, встречается азот; в таких случаях необходимо помещать символ азота «N» непосредственно в угол кольца, а не вне его, так как иначе можно подумать, что азот входит в присоединенную к углеродному атому боковую цепь, а не непосредственно в самое кольцо. В веществах биологического происхождения встречаются два важных гетероциклических кольца, а именно — кольцо пиррола



содержащее один атом азота и четыре атома углерода, и кольцо имидазола, которое также является пятичленным, но содержит два атома азота:

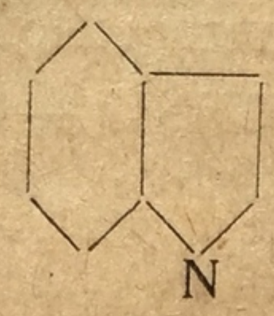


и, наконец, имеются соединения, молекула которых состоит из двух колец, обладающих двумя общими атомами. Примером таких соединений может служить нафталин. Он построен из двух бензольных колец, у которых два углеродных атома общие:

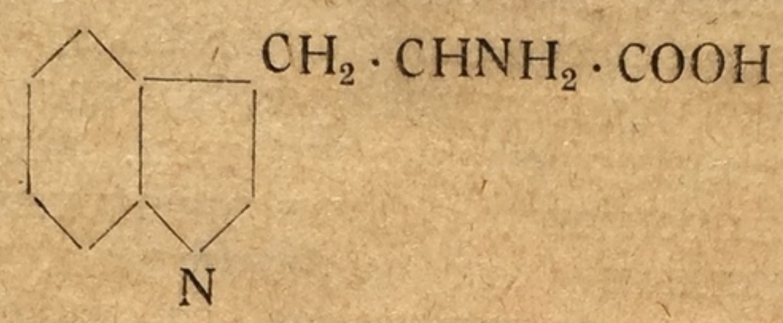


Встречаются еще соединения, спаренные кольца которых не одинаковы, как у нафталина, а различны.

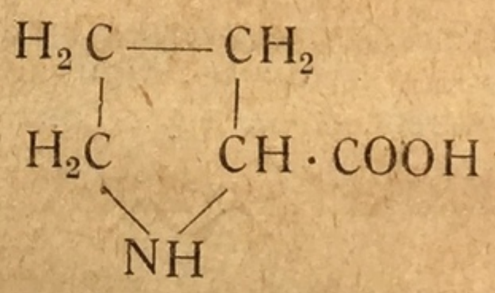
упоминали, что известны сложные циклические структуры, состоящие из нескольких соединенных вместе колец. В числе их имеется кольцо и н д о л а, которое состоит из бензольного кольца и гетероциклического пиррольного



Если индол присоединить в β-положении к молекуле аланина, то получится α-амино-β-индолпропионовая кислота:



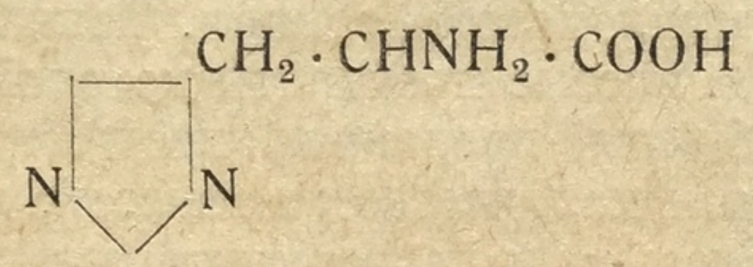
Эта аминокислота названа т р и п т о ф а н о м еще до того, как она была выделена в чистом виде, так как она освобождается при триптическом переваривании белка и может быть обнаружена по фиолетовой окраске (греч. fanos—светлый, явный), которую она дает (в свободном состоянии, но не в соединениях) с бромной водой. Триптофан разлагается при кипячении с разведенной соляной кислотой и поэтому не может быть получен из белков при помощи различных сильнодействующих реагентов. Неудивительно, что вплоть до 1901 г. он не был изолирован, пока кембриджским ученым Гопкинсу и Коулю не удалось его получить, подвергнув белок молока—казеин—осторожному переваривающему действию панкреатического сока и применив подходящие методы осаждения. В то самое время, когда Гопкинс и Коуль были заняты своей работой, стало известно, что Эмиль Фишер в Берлине тоже выделил при гидролизе белка какую-то новую субстанцию. Соединение, полученное Фишером, было белым кристаллическим веществом так же, как и вещество Гопкинса и Коуля. Но, когда Фишер опубликовал свою работу, оказалось, что полученное им соединение не было ни триптофаном, ни даже истинной аминокислотой, а п р о л и н о м, в котором атом азота имеется не в виде NH_2-группы, а образует часть «пирролидинового», т. е. восстановленного пиррольного кольца



Пролин

Следует рассмотреть еще одно важное производное аланина, которое содержит в β-положении пятичленное кольцо с двумя

атомами азота — кольцо имидазола. Формула имидазолаланина будет:



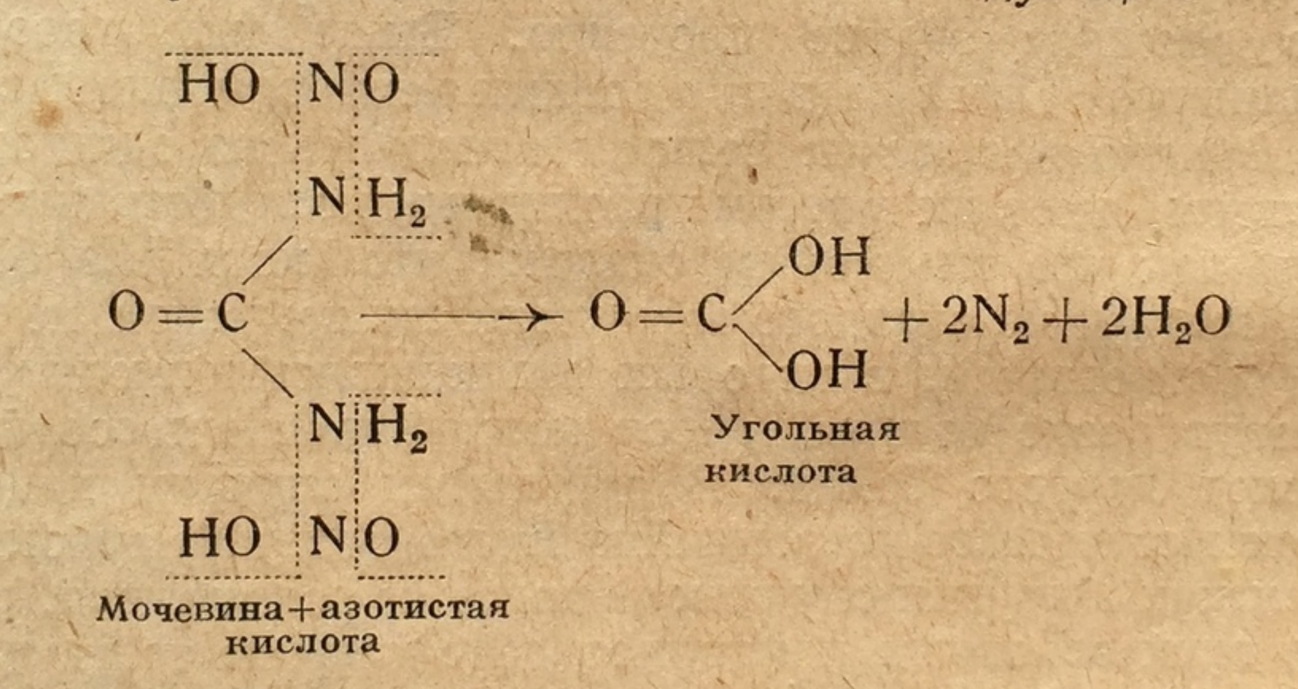
Эта аминокислота получила название гистидина и получается обычно путем гидролиза белков крови.

Таким образом, нам известно уже достаточно много типичных аминокислот, чтобы иметь представление о чрезвычайном разнообразии структур, встречающихся в этой группе соединений. Теперь необходимо подробно рассмотреть отношения между аминокислотами и белковой молекулой. Если взять любой белок и расщепить его молекулу кипячением с разведенной кислотой, то получается смесь аминокислот, причем все они будут α-аминокислотами; помимо описанных выше, мы найдем среди них еще и ряд других. Некоторые из них будут рассмотрены ниже более подробно. Аминокислоты в качестве продуктов распада найдены во всех случаях расщепления белков, будь то белки мяса или крови, белки животных или растений. Поэтому имеется основание считать аминокислоты теми структурными единицами, из которых состоит белковая молекула; они являются, так сказать, кирпичами, из которых построено сложное здание протеина. Выше уже говорилось, что большинство белков дает при расщеплении одинаковые аминокислоты. Однако различные белки, распадаясь на одни и те же аминокислоты, дают их в весьма различных количественных соотношениях, так что мы можем сказать, что хотя все белковые молекулы состоят из сходного комплекса аминокислот, но количественные соотношения, в которых аминокислоты входят в один белок, могут резко отличаться от количественных соотношений аминокислот другого белка. В отдельных случаях какой-либо белок может содержать чрезвычайно много данной аминокислоты, между тем как в других случаях ее вовсе не содержится.

Знание этих основных принципов дает ключ ко всему дальнейшему изучению поведения белков в организме. Ближайшее отношение к этому имеет вопрос, к рассмотрению которого мы сейчас и перейдем,—это вопрос о качественных реакциях на белки. Большое значение имеет возможность определить, содержит ли данная биологическая жидкость белок или нет; при решении этого вопроса очень ценные услуги исследователю оказывают некоторые цветные реакции, даваемые белками.

Прежде всего мы опишем реакцию, известную под названием миллоновой реакции. Если прибавить несколько капель реактива Миллона к раствору, содержащему белок, то получится белый осадок, при осторожном кипячении окрашивающийся в кирпично-красный цвет. Было обнаружено, что эту цветную реакцию дает тирозин, а также все соединения, которые, подобно тирозину, содержат оксифенильное кольцо. Причиной, почему большинство

белков дает миллонову реакцию, является почти постоянное присутствие тирозина в белках; те же белки, которые не содержат тирозина, не дают миллоновой реакции. Таким белком является, например, желатина, чистые препараты которой не дают миллоновой реакции, хотя обычный продажный продукт, вследствие загрязнения незначительным количеством примесей, дает слабо положительную реакцию. Здесь надо подчеркнуть, что результат считается положительным только в том случае, если при кипячении появляется красное окрашивание; белый же осадок дают не все белки, и, наоборот, многие субстанции биологического происхождения, включая даже мочевину, образуют белый осадок, который, однако, не меняет цвета при кипячении. Происходит это потому, что миллонов реактив является смесью азотнокислых солей ртути, полученных растворением ртути в крепкой азотной кислоте; он содержит избыток азотной кислоты и некоторое количество азотистой кислоты, образовавшейся путем восстановления азотной. При прибавлении мочевины к раствору ртутных солей получается двойная основная соль ртути и мочевины, выпадающая в осадок. Это объясняет нам одну сторону поведения мочевины в отношении миллонова реактива. Но есть еще и вторая сторона. Всякий раз, когда вещество, содержащее аминогруппу, приводится в контакт с азотистой кислотой, происходит выделение свободного азота. В частном случае мочевины имеет место следующее:



Образовавшаяся угольная кислота распадается на угольный ангидрид и воду. Мы не будем больше заниматься этим вопросом; укажем лишь еще раз, что один только белый осадок не доказывает еще присутствия белка или тирозина, если при кипячении не появляется характерное красное окрашивание; если же вместо этого реакция сопровождается выделением пузырьков газа, то очень вероятно присутствие мочевины.

Вторая цветная реакция на белки известна под названием **глиоксиловой реакции**. Реактив для нее приготовляется восстановлением щавелевой кислоты амальгамой натрия или порошком магния. Получается раствор, который в основном состоит из глиоксиловой кислоты $\begin{matrix} CHO \\ | \\ COOH \end{matrix}$. Смешивают равные коли-

чества реактива и исследуемого раствора. Затем осторожно по стенке пробирки приливают крепкую серную кислоту,—если имеется белок, то на месте соприкосновения двух слоев жидкости получается пурпуровое кольцо. Эта реакция связана с присутствием триптофана. Естественно, что если в каком-либо белке триптофан в качестве составной части отсутствует, то реакция не получается, как мы это и видим в случае желатины: она не дает никакого окрашивания с глиоксилевой кислотой в присутствии крепкой серной кислоты. Из этого следует, что обе описанные цветные реакции на белки на самом деле являются реакциями на аминокислоты—тирозин и триптофан,—и что белки дают эту реакцию лишь постольку, поскольку тирозин и триптофан являются составными частями их молекулы.

Далее ароматические кольца, содержащиеся в тирозине, триптофане и фенилаланине, обусловливают ксантопротеиновую реакцию, которую дают все белки. Крепкая азотная кислота образует с этими циклическими соединениями окрашенные в желтый цвет производные, окраска которых при прибавлении аммиака переходит в оранжевую. Желатина дает эту реакцию благодаря наличию фенилаланина.

Теперь рассмотрим вопрос о способе соединения аминокислот при образовании белковой молекулы. Так как аминогруппа и карбоксильная группа являются наиболее активными группами в молекуле аминокислоты, то следует ожидать, что соединение аминокислот будет происходить именно посредством этих двух групп. Ряд фактов доказывает, что это и на самом деле имеет место. Например, аминокислоты, как и все соединения, имеющие аминогруппу, выделяют азот под действием азотистой кислоты. Белки под действием азотистой кислоты выделяют очень мало азота: это может означать только то, что аминогруппы аминокислот, составляющих белковую молекулу, не свободны и что они участвуют в той связи, которая соединяет отдельные структурные единицы в одно целое. Действительно, Эмилю Фишеру удалось соединить отдельные аминокислотные молекулы в длинную сложную цепь путем выделения воды за счет аминогруппы одной аминокислоты и карбоксильной группы другой. Практически такие результаты были получены до известной степени окольными путями, но это обстоятельство для нас сейчас не имеет значения. Возьмем случай соединения молекул аланина и глицина:

$$\underset{\text{Аланин}}{CH_3 \cdot CHNH_2 \cdot CO\boxed{OH}} + \underset{\text{Глицин}}{\boxed{H}NH \cdot CH_2 \cdot COOH} \rightarrow$$

$$\rightarrow \underset{\text{Аланил-глицин}}{CH_3 \cdot CHNH_2 \cdot CO - NH \cdot CH_2 \cdot COOH}$$

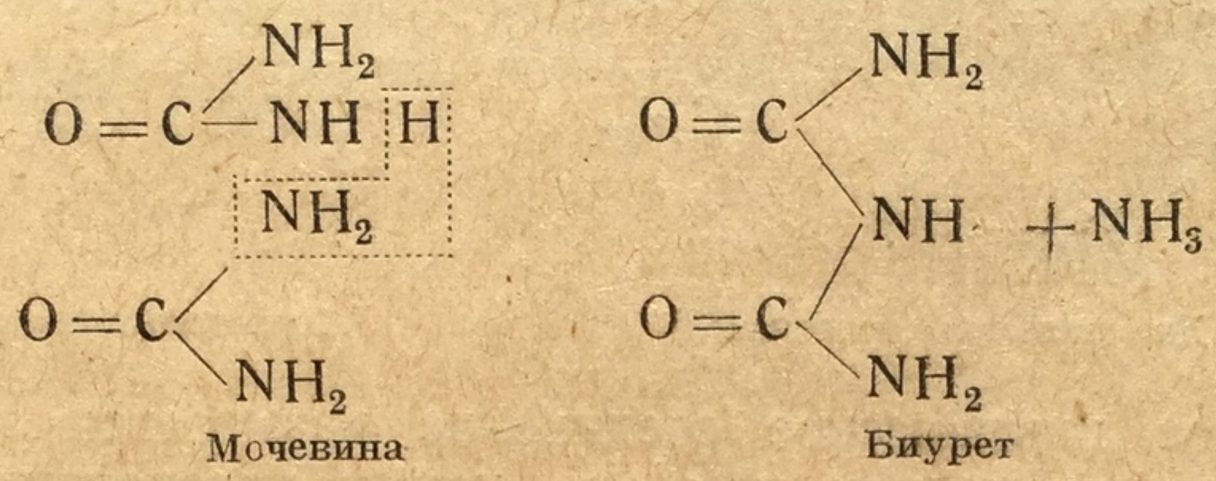
Полученный продукт содержит еще одну свободную аминогруппу и одну карбоксильную группу; за счет этих групп точно таким же способом могут образоваться связи с другими аминокислотами, так что при повторении соответствующих химических

манипуляций соединение, молекула которого состоит из цепи аминокислот, может расти все дальше и дальше.

Из этого способа соединения видно, что аминокислоты связываются друг с другом посредством характерной группы CO·NH. Это так называемая пептидная связь, и вещества, полученные описанным выше путем, относятся к ди-, три-, тетра- или полипептидам, согласно числу входящих в молекулу аминокислот. Многие полипептиды в настоящее время получены синтетическим путем. При этом оказалось, что соединения, получающиеся сочетанием аминокислотных молекул в одну длинную пептидную цепь, обнаруживают значительное сходство растворимости и других химических свойств с более простыми природными белками. Но еще важнее, что эти искусственные полипептиды при том условии, что они состоят из аминокислот, находимых в естественных белках, могут быть расщеплены под действием тех же самых ферментов, которые в пищеварительном канале аналогичным путем расщепляют белки пищи и о специфичности которых мы узнаем ниже. Это можно истолковать только так, что в обоих случаях подвергается воздействию одна и та же химическая группировка; другими словами, что существенной и характерной группировкой естественных и искусственно синтезированных полипептидов должна быть пептидная связь. Самая длинная полипептидная цепь, синтезированная до сих пор, состоит из девятнадцати аминокислот, но и этот полипептид отнюдь не является пределом наших возможностей в направлении синтеза белковой молекулы. Нет никаких оснований сомневаться в дальнейшем прогрессе, когда будут открыты более эффективные методы соединения аминокислот и когда (что, вероятно, еще важнее) мы будем в состоянии выбирать из возможного разнообразия сочетаний аминокислот такие, которые действительно встречаются в природных белках. Трудности кроются именно в последнем обстоятельстве—в огромном числе теоретически возможных перестановок и комбинаций природных аминокислот, достигающем астрономических величин. Выбор между этими теоретически возможными комбинациями затрудняется еще тем, что мы не знаем способа расщепления белка только до ди- и трипептидов, в которых легче установить порядок сочетаний аминокислот,—способа, который дал бы нам в руки ключ для решения вопроса о «соседстве» аминокислот в молекуле природного белка. Все наши способы расщепления белка дают нам или слишком сложные для прямого исследования продукты, или доводят белок до отдельных аминокислот. Но одно по крайней мере известно, что различные белки являются комплексом аминокислот, в котором во всяком случае главной соединяющей группой служит пептидная связь.

Теперь можно уже разобраться в четвертой реакции, которая имеет значение как способ обнаружения белка. Она состоит в образовании ярко окрашенных медных соединений, обычно синего или фиолетового цвета, если в исследуемый раствор, предварительно сильно подщелочив его едкой щелочью, прибавить каплю разве-

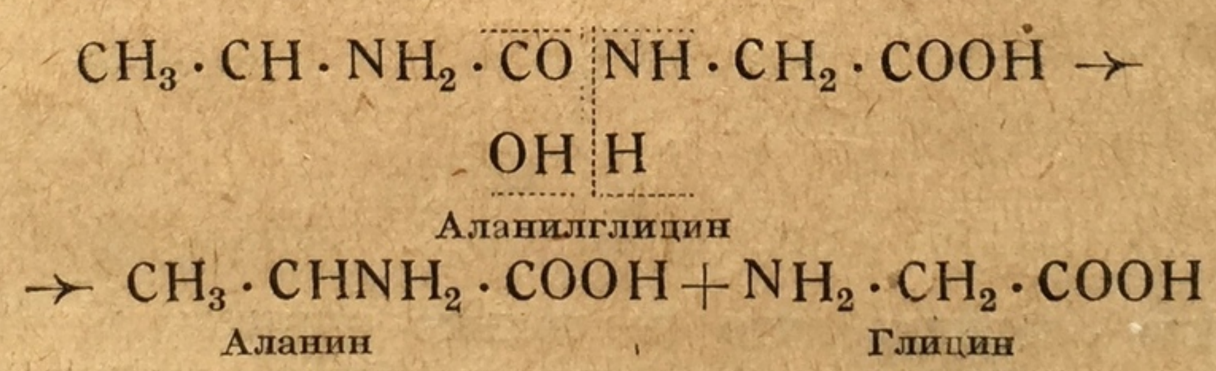
денного раствора сернокислой меди. Эта реакция известна под названием **биуретовой**, потому что впервые она была обнаружена в опытах с биуретом. Биурет—это вещество, получающееся при нагревании сухой мочевины, две молекулы которой соединяются с выделением аммиака:



Мочевина Биурет

Но эту цветную реакцию дает не только один биурет; она получается практически со всеми веществами, содержащими две группы—CO—NH,— присоединенные к одному и тому же углеродному атому (или атому азота). К таким веществам относится, конечно, и сам биурет, в котором центральный атом азота присоединяет две—CO—NH-группы, а затем все белки и полипептиды, где связь осуществляется посредством углеродного атома. Желатина, как и все другие белки, содержит многочисленные пептидные связи и в силу этого также дает биуретовую реакцию.

В предыдущем изложении были приведены доказательства, на которых основывается представление, что молекула белка состоит из комплекса аминокислот, соединяющихся друг с другом путем выделения воды. Теперь легко понять, что реакция, происходящая при нагревании белка с кислотой, обратна реакции соединения аминокислот: это процесс **гидролиза**, при котором молекула воды присоединяется к пептидной связи и образуются свободные аминокислоты. Возвращаясь к нашему первоначальному примеру с аланилглицином, можно написать:

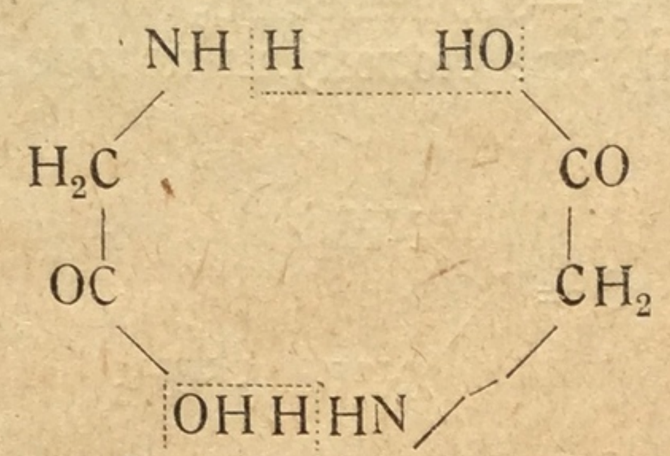


Аланилглицин

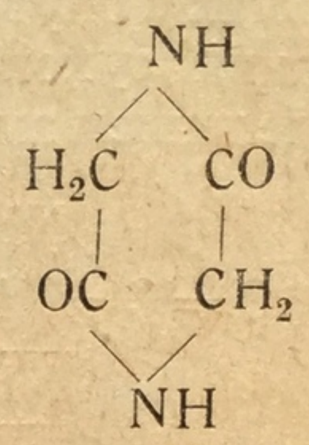
Аланин Глицин

В настоящее время многие химики высказывают предположение, что простая пептидная связь в виде прямой цепи не является единственным способом соединения аминокислот в белковую молекулу и что аминокислоты могут соединяться в сложные циклические структуры. Один из путей образования этих структур легко понять. Уже говорилось (стр. 13), что при образовании пептидной связи между двумя аминокислотами используется по одной амино- и карбоксильной группе, а другие две остаются свободными. Предположим, что две оставшиеся группы также соединятся в пептидную связь; получается гетероциклическое соединение с кольцом,

состоящим из четырех углеродных и двух азотных атомов. Иллюстрируем это на глицине:

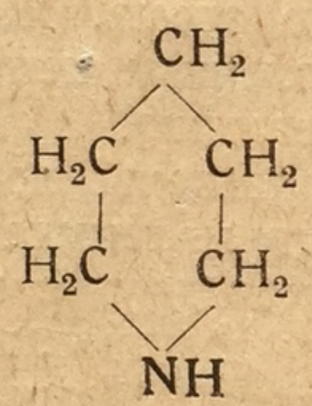


Две молекулы глицина

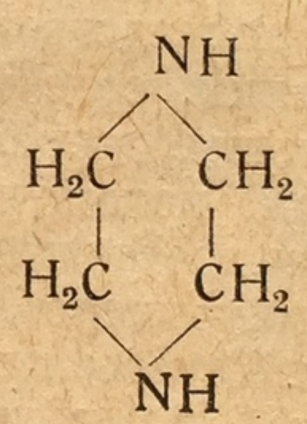


Дикетопиперазин

Полученное циклическое соединение называется дикетопиперазином, так как оно может рассматриваться как происшедшее от родственного вещества, пиперазина, путем введения в его молекулу двух кетонных, или карбонильных, групп—CO. Пиперазин можно рассматривать как производное пиперидина, полученное замещением одного атома углерода последнего азотом. Название пиперидин происходит от латинского piper (перец), из которого он был впервые получен.

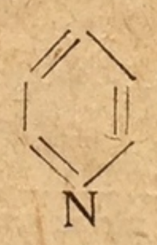


Пиперидин



Пиперазин

Пиперидин можно получить восстановлением одного из важнейших гетероциклических соединений—пиридина:



Совершенно очевидно, что не только глицин, но любые две α-аминокислоты теоретически могут быть соединены такой связью и дать замещенный дикетопиперазин. В самом деле, каждую α-аминокислоту можно рассматривать как половину молекулы дикетопиперазина. Соединения подобного рода действительно получены при гидролизе белков, но в какой мере они предсуществуют в белковой молекуле—пока еще полностью не выяснено.

Следует еще упомянуть, что все белки содержат серу. Сера находится в белке в виде содержащей серу аминокислоты, называемой цистином (от греч. cystis—пузырь, так как цистин впервые был открыт в камнях мочевого пузыря). Формулу этого соединения легче понять, если вспомнить, что двухвалентный атом серы

замещает часто кислородный атом и дает тиопроизводные. Среди органических соединений мы встречаем:

$C_2H_5 \cdot OH$	C_2H_5SH
Этиловый спирт	Тиоспирт, называемый также меркаптаном, так как он легко присоединяет ртуть (mercurium captans)

Подобным образом β-оксипроизводное аланина, а именно

$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

дает соответствующее тиопроизводное с формулой

$$\begin{array}{l} CH_2SH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

Эта аминокислота носит название цистеина. На воздухе в растворе цистеина происходит окисление водородных атомов сульфгидрильных групп (SH) последнего и путем соединения двух остатков такого окисленного цистеина мы получаем сложную содержащую серу аминокислоту—цистин:

$$\begin{array}{ccccc} H_2C & — & S & — & S & — & CH_2 \\ | & & & & & & | \\ CHNH_2 & & & & & & CHNH_2 \\ | & & & & & & | \\ COOH & & & & & & COOH \end{array}$$

Цистин

Цистин встречается в яичном альбумине и в кератине, нерастворимом белке волос, шерсти и рогов; гидролизом последних цистин обычно и получается.

Другая содержащая серу аминокислота, называемая метионином

$$CH_3—S—CH_2—CH_2—CHNH_2—COOH,$$

Метионин

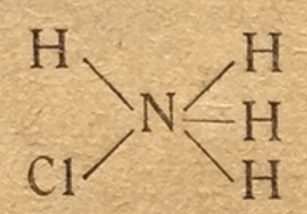
является дериватом аминомасляной кислоты.

Наличие серы в белке легко может быть обнаружено кипячением его раствора с крепким раствором едкой щелочи. При этом образуется сернистый натрий, который при прибавлении раствора свинцовой соли дает черный осадок сернистого свинца.

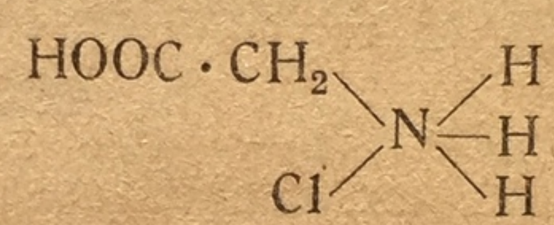
Нетрудно видеть, что последняя реакция, как и вообще все цветные реакции на белки, описанные нами выше, никоим образом не специфична для белков как таковых, но является просто реакцией на различные части белковой молекулы. Все цветные реак-

ции, за исключением биуретовой, могут быть получены со смесью соответствующих аминокислот.

Теперь, когда мы уже ознакомились с рядом отдельных аминокислот, нам необходимо заняться рассмотрением их наиболее общих свойств. Прежде всего нужно указать, что все эти аминокислоты представляют собой белые кристаллические вещества, сильно отличающиеся по своему поведению от белков, из которых они произошли. Благодаря тому, что они содержат карбоксильную группу, они ведут себя как кислоты и образуют с основаниями кристаллические соли. Например, легко можно получить натриевую соль глицина $NH_2 \cdot CH_2 \cdot COONa$. Но аминокислоты содержат также и аминогруппу, которая имеет щелочной характер и сообщает веществам, ее содержащим, способность реагировать как основания и давать соли с кислотами. Так, глицин соединяется с соляной кислотой и образует кристаллическую солянокислую соль $HCl \cdot H_2N \cdot CH_2 \cdot COOH$, которую можно рассматривать как производное хлористого аммония:

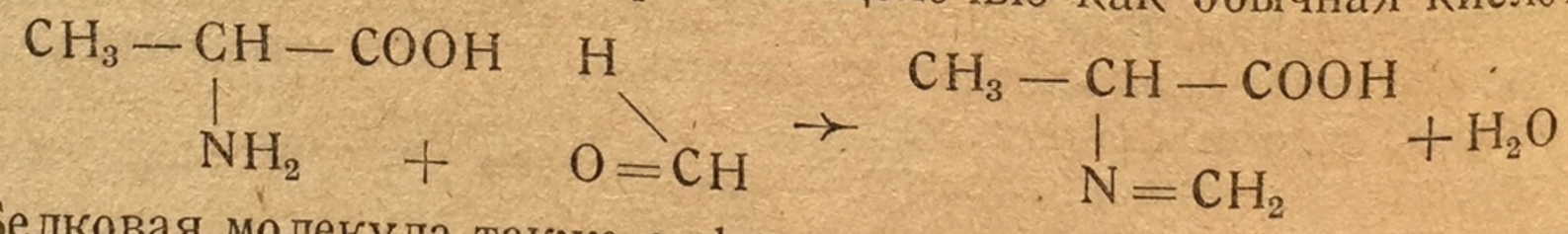


Хлористый аммоний



Солянокислый глицин

Вещества, которые обладают способностью действовать на кислоты как основания и на основания как кислоты, носят название амфотерных веществ, или амфолитов. Вследствие наличия одновременно кислых и основных групп аминокислоты не могут быть совершенно точно определены титрованием; они не дают резкого изменения реакции в точке нейтрализации. Но если к аминокислоте добавить формальдегида, то последний соединяется с аминогруппой, образуя метиленовое производное; этим подавляется щелочная функция аминогруппы, и тогда аминокислота может быть оттитрована щелочью как обычная кислота:



Белковая молекула также амфотерна, ибо не все амино- и карбоксильные группы связываются в пептидных связях,—часть их остается свободной; это обстоятельство очень важно для понимания особенностей физико-химических свойств белка.

В заключение укажем, что задачей современной химии протеинов остается определение точного числа молекул каждой из аминокислот, входящих в состав различных видов белка, и выяснение способов их связи. До настоящего времени не существует еще ни одного белка, в отношении которого наши знания были бы исчерпывающими. Разделение и определение всех аминокислот, имеющихся в гидролизате белка, является сложным и трудным процессом, так что всегда для идентификации белков приходится довольствоваться лишь установлением относительных количеств каждого

к л а с с а аминокислот, получающихся в качестве продуктов расщепления. Это «распределение азота» в белке определяется по методу ван Слайка, заключающемуся в общих чертах в следующем. Белок гидролизуется кипячением с 20% соляной кислотой; при этом содержащиеся в нем аминокислоты освобождаются, а триптофан превращается в коричневый нерастворимый г у м и н. Общий азот гумина определяется по методу Кьельдаля (сжигание с крепкой серной кислотой и последующая отгонка образовавшегося аммиака в титрованный раствор кислоты) и дает азот триптофана, содержавшегося в белке. Диаминокислоты гидролизата осаждаются и отделяются от моноаминокислот фосфорновольфрамовой кислотой. В каждой такой фракции общий азот определяется по Кьельдалю; кроме того, определяют объем азота, выделяющегося при обработке азотистой кислотой (стр. 12). Последние цифры дают нам представление об азоте аминогрупп, а разность между этой величиной и общим азотом соответствует азоту, входящему в состав гетероциклических структур, например, пролина. Наконец, цистин (который осаждается вместе с диаминокислотами) может быть определен в виде сульфатов, получающихся при полном окислении цистина. Применяя этот метод, описанный здесь в самых кратких чертах, можно учесть почти весь азот белка за исключением 1—2%. Но все-таки это не дает еще нам ни представления о характере сочетания аминокислот, ни возможности установить чисто химическими способами те небольшие, но важные различия в структуре, которые отличают друг от друга сходные белки различных видов. Чувствительность и специфичность иммунологических реакций, позволяющих отличать, скажем, яичные альбумины курицы и утки, недостижимы в пределах чисто химической техники.

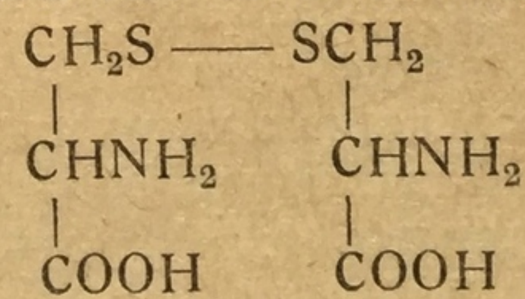
Схематически можно резюмировать содержание этой главы следующим образом.

Белки являются характерными составными частями живой материи. Их молекулы построены из огромного числа аминокислот, соединенных пептидными связями в прямые цепи и, быть может, в циклические структуры. Важными представителями аминокислот являются:

аминоуксусная кислота, глицин, $NH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$
α-аминопропионовая кислота, аланин, $CH_3 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$

с производными — фенилаланином, тирозином, триптофаном и гистидином, взаимоотношения которых показаны дальше.

Сера, содержащаяся в белковой молекуле, входит большей частью в состав сложной тиоаминокислоты цистина:

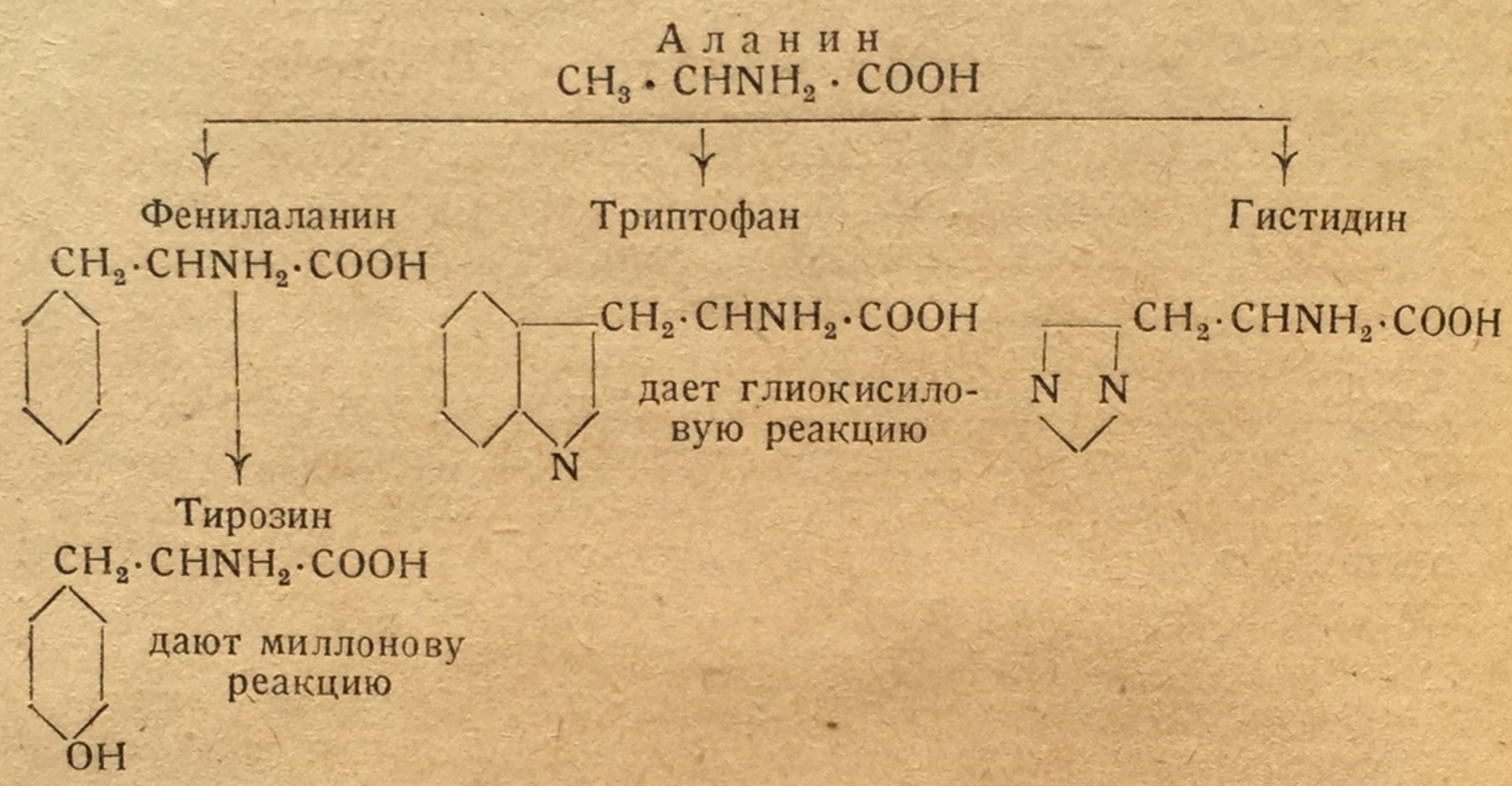


и частью в состав метионина

$$CH_3 \cdot S \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH.$$

Биуретовая реакция на белки обязана наличию связи

$$-CO-NH-\underset{\diagup\diagdown}{C}-CONH-$$



ГЛАВА II

ГЛАВНЫЕ РАЗНОВИДНОСТИ БЕЛКОВ, ИХ СВОЙСТВА И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ

Как уже выяснилось из главы I, белковая молекула является сложным образованием, построенным из аминокислот. Теперь необходимо указать, что эти химические агрегаты аминокислот могут значительно различаться по степени их сложности, вследствие чего мы сталкиваемся с громадным разнообразием белковых молекул, начиная с таких, где содержится сравнительно небольшое число отдельных аминокислот и которые поэтому невелики и просты, и кончая такими, где молекула состоит из огромного числа разнообразных аминокислот. Эти различия в степени сложности сопровождаются существенными отличиями в химических и физических свойствах. Последнее дает нам возможность классифицировать белки на вспомогательные группы и определенным образом систематизировать их. Наиболее важным свойством, которое широко используется для разделения и в некоторых случаях для характеристики основных классов белков, является их растворимость. Задача настоящей главы заключается в ознакомлении с различными видами белков, с их растворимостью а также с методами, посредством которых эти свойства используются для идентификации отдельных белков. Если в первой главе речь шла о том, чтобы ответить на вопрос «что такое белок» и « как

доказать наличие белка, если он имеется в растворе»,—то теперь мы сможем расширить и углубить наши представления о природе протеинов.

Если попытаться разделить белки, входящие в состав клеток и тканей, и изучить виды протеинов, встречающиеся в естественном состоянии в живой материи, то придется столкнуться прежде всего с двумя важнейшими группами белков, сходными по многим свойствам, но различающимися по растворимости. Белки одной группы носят название альбуминов, по имени яичного альбумина, типичного представителя этой группы; другая группа называется глобулинами.

Эти две группы белков разделяются и характеризуются по их ясно выраженному различию растворимости. В общем глобулин обладает меньшей способностью растворяться и оставаться в растворе, чем альбумин. Это прежде всего обнаруживается из их отношения к крепким растворам нейтральных солей. В концентрированных растворах нейтральная соль как бы обладает способностью притягивать, связывать воду, в которой соль растворена, так что она может, так сказать, отнимать воду от другого растворенного вещества, в частности, от протеина и таким образом вызывать осаждение его. Несомненно, что этот процесс «высаливания» на самом деле значительно сложнее; все же, отвлекаясь от других факторов, можно сказать, что осаждающая сила соли в значительной степени зависит от ее концентрации. Поэтому-то в качестве осадителей наиболее употребительны соли, легко растворимые в воде и способные давать сильно концентрированные растворы. В частности, этими свойствами обладает сернокислый аммоний, которым весьма охотно и пользуются для целей высаливания. Установлено, что если к раствору глобулина добавить такое количество сернокислого аммония, которое равнялось бы половине необходимого для полного насыщения раствора, то глобулин осаждается. Это «полунасыщение сернокислым аммонием» легко может быть достигнуто смешением равных объемов исследуемого раствора и насыщенного раствора соли. Осажденный глобулин не подвергается химическим изменениям и легко переходит снова в раствор, как только из последнего удаляется избыток сернокислого аммония. С другой стороны, альбумины для осаждения нуждаются в концентрациях сернокислого аммония, превышающих половину насыщения, и для осаждения их обычно прибегают к полному насыщению раствора сернокислым аммонием. Это, конечно, может быть достигнуто только растворением твердого кристаллического сернокислого аммония.

Различие в растворимости между альбуминами и глобулинами обнаруживается далее в том, что в то время как альбумины легко растворяются в дестиллированной воде, типичные глобулины в ней не растворяются; растворение наступает лишь после прибавления некоторого количества (около 1 %) хлористого натрия или другой нейтральной соли. Таким образом, если подвергнуть диализу раствор, содержащий глобулин, то по мере освобождения

раствора от соли глобулин постепенно будет осаждаться. Следует еще указать, что хотя только что описанное поведение свойственно типичным глобулинам, в животных тканях существуют многие своеобразные глобулины, или псевдоглобулины, которые по растворимости в дестиллированной воде сходны с альбуминами; так, например, часть глобулиновой фракции сыворотки крови растворима в дестиллированной воде. Однако все глобулины отличаются от альбуминов по способности осаждаться при полунасыщении сернокислым аммонием. В слабокислых (1% уксусная кислота) или слабощелочных (2% углекислый натрий) растворах глобулины так же хорошо растворимы, как и альбумины.

Наиболее характерное общее свойство глобулинов и альбуминов, которое может отсутствовать у некоторых других белков, заключается в свертывании их растворов при нагревании до определенной температуры. Этот процесс коагуляции выражается в выпадении белка из раствора, сопровождающемся, в отличие от описанного выше осаждения сернокислым аммонием, частичным распадом белковой молекулы. Коагуляция при кипячении является способом отделения альбуминов и глобулинов от других белков.

При частичном расщеплении нативных белков, проведенном тем или другим путем, мы получаем более простые дериваты с меньшим молекулярным весом. Если проводить расщепление при помощи сильно разведенной кислоты (0,4% HCl при температуре тела), то получим продукты, носящие название метапротеинов, или измененных протеинов. Эти метапротеины отличаются от нативных протеинов, из которых они произошли, тем, что растворяются только в ясно кислых или щелочных растворах. Они осаждаются при нейтрализации, так как не растворяются ни в чистой воде, ни в растворах нейтральных солей. Другими словами, существует такая узкая область реакции, лежащая в кислой стороне, недалеко от нейтральной точки, где метапротеины нерастворимы; они нерастворимы также и в полунасыщенном растворе сернокислого аммония. Метапротеины имеют большое значение потому, что они образуются в результате частичного гидролиза альбуминов и глобулинов при нагревании и именно из метапротеинов состоит белковый сгусток, возникающий при нагревании растворов альбуминов и глобулинов. Это объясняет нам, почему процесс коагуляции необратим: причина та, что здесь происходит превращение альбуминов или глобулинов в метапротеины. Кроме того, теперь становится понятным, почему для полного и отчетливого свертывания белка необходима слабокислая реакция,—при такой реакции образовавшиеся метапротеины нерастворимы. Но если раствор имеет более кислую реакцию или, наоборот, более щелочную, чем это соответствует минимуму растворимости метапротеинов, то последние остаются в растворе, и никакого осадка не получается. Значение этого фактора для анализа белковых растворов очевидно. Так, например, бесполезно добиваться получения осадка при кипячении, исследуя на альбумины мочу, если

предварительно не довести последнюю до соответствующей слабокислой реакции, особенно, когда моча при стоянии стала щелочной. Наиболее благоприятная для осаждения метапротеинов реакция соответствует точке изменения цвета индикатора бромкрезолпурпура.

Другим путем частичного расщепления нативных белков является их переваривание. Если к раствору белка прибавить вытяжку желудка, содержащую перевариваю щий белки фермент, пепсин, и оставить эту смесь на несколько часов при температуре тела, то получится ряд дериватов белка, которые можно разделить по их различной растворимости следующим образом. Сначала, при нейтрализации смеси, осаждаются метапротеины; затем кипячением фильтрата коагулируют и отделяют оставшиеся неизмененными альбумины и глобулины. Последующее полунасыщение раствора сернокислым аммонием дает осадок, состоящий из так называемых первичных альбумоз. Отфильтровав последние и насытив фильтрат сернокислым аммонием, получают другую фракцию, состоящую из вторичных альбумоз. Даже при полном насыщении смеси сернокислым аммонием некоторые продукты остаются в растворе; это будут так называемые пептоны. Пептоны не осаждаются крепкими растворами нейтральных солей и поэтому могут быть отделены от любых других белков путем насыщения сернокислым аммонием. Иными словами, если раствор был насыщен сернокислым аммонием, профильтрован и в фильтрате получаются цветные реакции на белки, то мы вправе заключить о наличии пептонов. Впрочем, следует напомнить, что некоторые из цветных реакций на белки, описанных в главе I, обусловленные присутствием в белковой молекуле определенных аминокислот, получаются и тогда, когда эти аминокислоты находятся в свободном состоянии. Но свободные аминокислоты более растворимы, чем белки; они не осаждаются не только сернокислым аммонием, но и другими реактивами, осаждающими белки; они не дают биуретовой реакции, так как не содержат группы CONH. Этот последний факт помогает отличить свободные аминокислоты от пептонов, которые дают при биуретовой реакции яркокрасную окраску.

Таким образом, мы перешли от сложных белков к более простым продуктам. Теперь следует направить внимание в противоположную сторону,—на вещества более сложные, чем те, которыми мы до сих пор занимались. Существует много веществ, молекула которых состоит из соединения белковой молекулы с другим веществом небелкового характера. Эти вещества называются сложными белками, или протеидами. Хорошо известным примером является гемоглобин—красный дыхательный пигмент крови. Он состоит из коагулирующего белка, глобина, соединенного с небелковой молекулой, называемой гемом. В некоторых сложных белках небелковая часть комплекса состоит из фосфорной кислоты. Сюда относятся фосфоропротеиды, например, казеин, главный белок молока. Небелковой группой могут быть и некоторые углеводы; в этом случае белок принадлежит к глю-

копротеидам. Примером последних является муцин — вещество, сообщающее многим слизистым секретам их своеобразный характер. Наконец, наиболее сложными являются протеиды, составляющие наиболее важную часть ядер клеток и поэтому называющиеся нуклеопротеидами. В них небелковая часть молекулы сама является сложным соединением, состоящим из фосфорной кислоты, углевода и веществ основного характера, относящихся к классу мочевой кислоты и называемых пуриновыми основаниями. Детали строения нуклеопротеидов будут рассмотрены лишь после того, как будет выяснено их отношение к мочевой кислоте (см. гл. VII). Главная наша задача в настоящий момент—подчеркнуть, что растворимость этих трех групп сложных белков весьма сходна. Все они растворимы в разведенных щелочных растворах и нерастворимы в разведенных кислотах, так что жидкости с кислой реакцией не могут содержать этих белков; поэтому при переходе реакции из щелочной в кислую они выпадают в осадок. Муцин отличается, однако, от нуклеопротеидов и казеина тем, что он нерастворим в крепкой уксусной кислоте, чем часто пользуются гистологи для того, чтобы обнаружить муцин в клетке.

Тот факт, что нуклеопротеиды и казеин растворимы в весьма крепких растворах кислот (например, в 33% уксусной кислоте), имеет известное значение. Возьмем в качестве примера казеин. Мы видим, что он растворяется в слабо щелочной, нерастворим в нейтральной и слабо кислой жидкости, но снова становится растворимым в сильно кислых растворах. Другими словами, так же, как и в случае метапротеинов, существуют определенные условия кислотности, при которых растворимость казеина очень мала, а при некоторой определенной реакции—минимальна. Это обусловлено его амфотерными свойствами, характерными для протеинов, которые рассматривались в I главе. В щелочной среде казеин ведет себя как кислота и дает соли с основаниями, более растворимые, чем свободный казеин. В сильно кислой среде казеин действует как основание и дает также легко растворимые соли с кислотами. Но в некоторой определенной промежуточной реакции казеин не является ни кислотой, ни щелочью; он остается свободным, практически нерастворимым казеином. С другой стороны, мы видели, что альбумины и глобулины растворимы и при кислой, и при щелочной реакции; мы обращали внимание также и на то, что типичное свертывание этих белков при нагревании проявляется полностью только при такой реакции, когда коагулирующий белок имеет минимум растворимости.

Желатина—другой интересный пример влияния реакции среды или, точнее говоря, концентрации водородных ионов. Как хорошо известно, желатина растворима при нагревании в воде, в разведенных растворах солей, в кислотах, в щелочах; растворы, содержащие более 1% желатины, при охлаждении превращаются в студень. На первый взгляд здесь не имеется той концентрации водородных ионов, при которой растворимость желатины была бы мини-

мальной. Но желатина, как и все другие белки (за исключением своеобразных белков, найденных в зернах злаков), нерастворима в умеренно крепком алкоголе. Было установлено, что если прибавить равный объем алкоголя к серии растворов желатины, реакция которых постепенно изменяется от ясно щелочной до ясно кислой, то максимум осаждения желатины приходится как раз на тот раствор, где концентрация водородных ионов соответствует минимуму растворимости; в то же время в более кислых и более щелочных растворах желатина или не совсем осаждается, или ее осаждается немного. В дальнейшем мы остановимся подробнее на исключительном значении влияния водородных ионов на растворимость белков, сказанное же здесь послужит нам как бы введением. Для полноты изложения следует упомянуть, что желатина осаждается полунасыщенным сернокислым аммонием.

Этим мы заканчиваем обозрение главных групп белков и их растворимости. Мы подчеркиваем еще раз, что растворимость белков используется не только для аналитического разделения их, но также для характеристики и определения различных классов белков, так как мы все еще не настолько осведомлены относительно структуры белковой молекулы, чтобы классифицировать их по чисто химическим признакам: в настоящее время нет никакой возможности дать химическую формулу даже для самых простых белков.

Имея в виду исключительное значение разделения различных типов белков при биохимических работах, мы сопоставим в виде диаграммы (стр. 26) все то, что говорилось нами ранее относительно растворимости белков. В этой диаграмме черта, проведенная на уровне названия белка и под наименованием какого-либо растворителя, обозначает, что данный белок растворяется в этом растворителе. Если же соответствующее место остается пустым, то это значит, что белок в данной среде нерастворим; по отношению к растворам сернокислого аммония это указывает на то, что данный раствор осаждает белок. Эта схема дает представление о том, какие белки могут находиться в том или ином растворе или в материале, растворимом при данных условиях. Точный способ практического применения приведенных сведений читатель сможет выбрать сам; в отношении некоторых случаев эти способы полнее описаны в практикумах физиологической химии. Давая наше резюме в таком полусхематическом виде, мы лишь напомним, что единственный путь, которым может быть проведен качественный анализ того или другого рода,—это регистрация на каждой стадии определения всех веществ, которые могли бы присутствовать в том или ином фильтрате или осадке. По мере хода анализа выясняется, какие из тех веществ, которые могли бы иметься, отсутствуют,—их вычеркивают из списка и, в конце концов, в списке остаются только те вещества, которые действительно имеются в исследуемом материале. Мы напомним также читателю, что на каждом этапе анализа, пользуясь соответствующими цветными реакциями, можно определить, действительно ли полностью выделены из раствора все белки.

СХЕМА

Растворимость главных видов белков

		Дестиллированная вода	Разведенный раствор соли (1% NaCl)	Разведенная кислота (1% уксусная)	Разведенная щелочь (2% Na_2CO_3)	Полунасыщенный сернокислый аммоний	Насыщенный сернокислый аммоний
Типичные нативные белки, коагулирующие при нагревании	Альбумины . . .						
	Глобулины . . .						
Продукты переваривания пепсином	Метапротеины . .						
	Альбумозы (1) . .						
	Альбумозы (2) . .						
	Пептоны						
Сложные белки	Муцин						
	Казеин						
	Нуклеопротеиды .						
	Желатина (нагретая)						

ГЛАВА III

ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ

До сих пор рассматривалось химическое строение и свойства протеинов, изучалось их поведение в пробирке. Но конечной целью нашего исследования является изучение тех изменений, которым они подвергаются в живом организме, и ознакомление с использованием их живой тканью. Прежде чем какие-нибудь пищевые вещества используются организмом,—независимо от того, будут ли это жиры, углеводы или белки,—они, как правило, изменяются и распадаются в результате процессов переваривания. Материал, с которым приходится иметь дело ткани, является поэтому не неизмененной составной частью пищи, но продуктами, возникшими из нее под влиянием перевариваю щего действия пищеварительных соков. Для того чтобы понять превращения белков в тканях, мы должны прежде всего проникнуть в природу тех изменений, которые эти вещества претерпевают во время переваривания, и ознакомиться с более простыми продуктами, которые при этом возникают.

Речь будет итти о вещах, которые читателям до известной степени знакомы. Общеизвестно, что энзимом, начинающим переваривание белков, является пепсин желудочного сока. При кислой реакции, обусловленной соляной кислотой, также выделяемой стенками желудка, этот энзим расщепляет сложные белки пищи—альбумины и глобулины—на более простые, некоагулирующие дериваты—метапротеины, альбумозы и пептоны. На этом действие пепсина заканчивается. Как бы долго пища ни оставалась в желудке, ее белки не расщепляются далее, чем до пептонов, ибо это является вообще пределом перевариваю щего действия пепсина; кроме образования пептонов, пепсин неспособен к какому-либо иному действию. Из желудка полупереваренная пищевая кашица—«химус»—поступает в двенадцатиперстную кишку, где она подщелачивается желчью и подвергается действию энзимов панкреатического сока. Давно уже было известно, что если растереть поджелудочную железу с разведенным алкоголем, то полученный экстракт обладает мощным перевариваю щим действием на белки. Активному энзиму, полученному из этого экстракта, было дано название трипсин (от греческого tripto—расщеплять). Но если на оперированном животном собирать панкреатический сок непосредственно из протока поджелудочной железы, то полученный сок не оказывает никакого действия на нативные белки. Очевидно, в поджелудочном соке содержится не трипсин как таковой, но трипсиноген, из которого трипсин легко может быть получен. При экстрагировании фермента из железы, очевидно, происходит активация фермента в результате сравнительно грубых методов его извлечения из ткани. Нормально же это активирование совершается под влиянием энтерокиназы— составной части кишечного сока, выделяемого железами слизистой оболочки тонких кишок; поэтому смесь панкреатиче-

ского и кишечного сока оказывает мощное переваривающее действие на нативные белки. Одно время думали, что эта активация трипсиногена энтерокиназой является энзиматическим процессом и состоит в «освобождении» трипсина из более сложного соединения; однако в настоящее время установлено, что количество образовавшегося активного трипсина при данных условиях пропорционально количеству имеющейся энтерокиназы и ограничено им и что оно не зависит от времени действия энтерокиназы на трипсиноген, т. е. нельзя компенсировать недостаток количества энтерокиназы удлинением времени ее действия. Отсюда вероятно, что действие энтерокиназы имеет не каталитический характер, но скорее является прямым соединением ее с трипсиногеном в более сложный комплекс—активный трипсин. То обстоятельство, что трипсин вырабатывается в железе неактивным и остается в таком состоянии до тех пор, пока на него не подействует энтерокиназа, можно рассматривать как явление приспособления, предохраняющее ткани поджелудочной железы от переваривающего действия энзима. Следует, впрочем, отметить, что хотя трипсиноген не оказывает действия на альбумины и глобулины, тем не менее он гидролизует более простые белки, например, так называемые протамины, далее пептоны, а также некоторые синтетические полипептиды.

В кишечном соке имеется другой протеолитический фермент—эрепсин (от греческого ereipo—разбиваю), который энергично расщепляет пептидные связи дипептидов и трипептидов, но совершенно не действует на высшие полипептиды, пептоны и нативные белки; в результате получается смесь свободных аминокислот. Следует указать здесь, что и панкреатический экстракт расщепляет пептоны и некоторые другие белки (например, казеин) практически полностью на свободные аминокислоты. Как установлено современными исследованиями, это объясняется присутствием в панкреатическом соке, помимо фермента, действующего на белки, трипсина или трипсиногена, еще и примеси тех же ферментов, которые входят в состав эрепсина (пептидаз). Точно так же оказалось, что и в кишечном соке, кроме собственно эрепсина, содержится еще примесь триптического фермента, так что действие кишечного сока не ограничивается простыми дипептидами и трипептидами: он гидролизует и такие белки, как пептоны и казеин.

Таким образом, распределение указанных протеолитических ферментов вовсе не так просто, как думали раньше: они не принадлежат исключительно какому-либо одному пищеварительному соку, но смешиваются друг с другом в различных пропорциях. Неудивительно поэтому, что прежде чем все это стало известным, часто тому или иному ферменту приписывалось то действие, которое на самом деле вызывалось примесью другого. Тем не менее, наши современные знания безусловно подтверждают, что в пищеварительном канале мы имеем ряд протеолитических ферментов, которые действуют индивидуально и специфически на белки или продукты их расщепления в направлении уменьшения степени

сложности их молекулы, пока, наконец, все белки пищи не распадутся на составляющие их аминокислоты.

Это обстоятельство имеет первостепенное значение для изучения химических процессов, происходящих в организме, так как оно подчеркивает центральное положение, занимаемое аминокислотами в том длинном ряде веществ, которые образуют промежуточные ступени между белками пищи, с одной стороны, и выделяемыми из организма конечными продуктами обмена, образующимися из белков,—с другой. Этим мы займемся в ближайших главах. Сейчас же мы хотели бы указать, что изучение действия протеолитических ферментов важно еще и потому, что оно проливает свет на структуру самих белков. Применяя соответствующие способы анализа, можно убедиться, например, что действие любого протеолитического энзима—пепсина, трипсина, трипсиногена или эрепсина,—приводит к освобождению карбоксильных и аминогрупп точно в эквивалентных количествах, и это показывает, что все эти ферменты разрывают только пептидные связи. Нет никаких доказательств того, что аминокислоты в белковой молекуле соединены еще какой-либо связью, помимо пептидной. Нет также указаний и на то, что действие протеолитических ферментов сводится к простой деполимеризации аминокислотного комплекса. Далее найдено, что ни один из этих ферментов не обладает каким-либо действием на дикетопиперазины, а это приводит к заключению, что дикетопиперазины не входят в сколько-нибудь значительной мере в состав белков. С другой стороны, ни один из протеолитических ферментов не действует на коллаген костей или кератин рогов, когтей и волос. Возможно поэтому, что дикетопиперазины входят действительно в состав этих «склеропротеинов», тем более что при кислотном гидролизе именно эти белки дают большое количество дикетопиперазинов.

Чрезвычайно интересные и важные результаты были получены при изучении действия протеолитических ферментов на синтетические полипептиды известного строения. В общем оказалось, что возможность расщепления полипептидов данным ферментом зависит частью от длины полипептидной цепи, а частью от специфической природы аминокислот, образующих эту цепь. Несмотря на интерес этого вопроса, мы не можем задерживаться на нем и, ограничившись этим беглым указанием, перейдем к рассмотрению отношения процессов переваривания белков к общей химической экономии целого организма.

Из предыдущего мы видели, что белки могут быть гидролизованы на составляющие их аминокислоты последовательным действием ферментов, выделяемых в различных частях пищеварительного канала, причем это совершается с такой же полнотой, как и при действии минеральных кислот, но при несравненно более низкой температуре. Мы должны теперь показать, что протеолитические ферменты пищеварительного канала действительно производят подобное полное расщепление белков пищи в организме.

Большое внимание было уделено доказательству того, что белки пищи действительно перевариваются вплоть до аминокислот. Казалось странным, что происходит столь полное расщепление белков и что оно является действительно необходимым. Прежний взгляд был таков, что если пища под влиянием пищеварительных процессов превращена в растворимые продукты, молекула которых настолько мала, что может проникнуть через мембрану пищеварительного тракта в кровь, то этим самым выполнена вся задача пищеварения. Мы указывали, что как раз пептоны особенно легко растворимы и, хотя и медленно, но все же диффундируют через мембраны; поэтому казалось, что пептоны обладают всеми признаками продукта полного переваривания белков. Но когда было выяснено, что аминокислоты являются химическими структурными единицами белков, то дальнейшие эксперименты показали, что они выполняют также роль и физиологических единиц белкового обмена в том смысле, что именно аминокислоты оказываются конечными продуктами переваривания белков, а следовательно, и исходным материалом, с которого начинается использование и синтез белков в процессах тканевого обмена.

Если белки расщепляются на аминокислоты и всасываются в виде таковых, то, следовательно, во время всасывания возможно было бы обнаружить эти аминокислоты в крови, оттекающей по ветвям воротной вены от пищеварительного канала. На первый взгляд может казаться, что это определение можно легко выполнить и что достаточно лишь произвести исследование крови, выходящей из сосудов пищеварительного канала, чтобы установить, содержит ли она какие-либо аминокислоты. Но в действительности это не такая простая задача, так как кровь сама по себе содержит некоторое количество аминокислот, и поэтому единственное, на что можно рассчитывать,—это установить лишь некоторое повышение количества аминокислот в крови, текущей по сосудам системы воротной вены. Это повышение может быть и незначительным, так как кровь протекает через кишечник так быстро, что огромные количества аминокислот могут быть вынесены из него при незначительном повышении концентрации аминокислот в крови. Таким образом, оказывается, что мы должны уметь обнаруживать незначительное увеличение концентрации аминокислот в жидкости, которая уже сама по себе содержит большое количество их. Подойти к разрешению этой задачи можно путем количественного определения аминокислот. Для этого можно использовать ту общую реакцию аминосоединений с азотистой кислотой, на которую уже было указано выше (стр. 12). Можно определить общее содержание аминокислот в крови, если, осадив подходящим способом и удалив белки, измерить объем азота, который получится при обработке фильтрата азотистой кислотой. При этом, соблюдая необходимые предосторожности, установили, что если в крови голодавшей собаки содержится 4 или 5 мг аминоазота на 100 мл крови, то после дачи мяса количество аминоазота увеличивается в 3 раза. Это является прямым доказательством того, что пищевые белки перевари-

ваются до аминокислот и в таком виде всасываются. При этом оказалось возможным даже идентифицировать отдельные аминокислоты, всосавшиеся из кишечника, путем извлечения их из циркулирующей крови. Для этого кровь пропускалась через длинные коллодийные трубки, погруженные в ванну с рингеровским раствором. Когда кровь протекает по этим трубкам, то аминокислоты, наряду с другими веществами, диффундируют в рингеровский раствор, причем скорость их диффузии будет зависеть от их концентрации в крови. Пройдя всю длину коллодийной трубки,

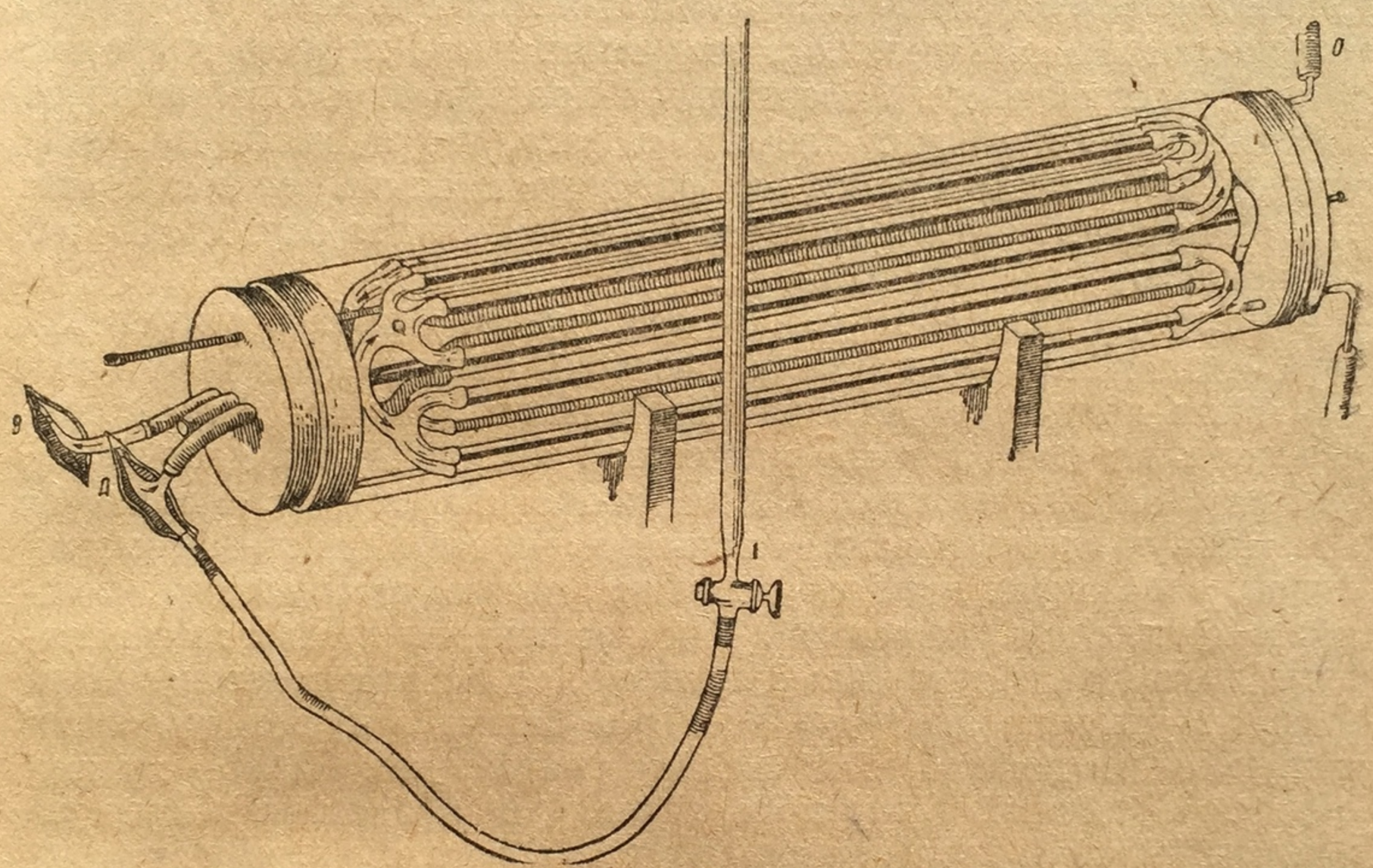


Рис. 1. Аппарат для вивидиффузии (по Абелю). Видна система коллодиевых трубок для диализа, окруженная наружной стеклянной трубкой с рингеровской жидкостью. Проходящая по трубкам кровь выходит из тела животного через канюлю *А* и возвращается туда через канюлю *В*. Бюретка содержит гирудин (экстракт из пиявок), примешиваемый в небольшом количестве к крови для предотвращения свертывания.

кровь возвращается в кровяной ток животного. Этот способ носит название в и в и д и ф ф у з и и, так как при таком эксперименте вещества диффундируют из крови живого животного (рис. 1).

Было установлено, что если эксперимент ставится на животном, переваривающем большую порцию белка, то количество аминокислот, накопляющихся в рингеровском растворе за определенный отрезок времени, оказывается значительно больше того, которое при аналогичных условиях может быть получено у голодавшего животного. Эти эксперименты непосредственно доказывают, что переваренные белки всасываются в виде свободных аминокислот. При вивидиффузии мы находим в диализате портальной крови многие из тех аминокислот, которые нам известны как продукты полного гидролиза белков вне организма.

С другой стороны, если белки пищи в течение пищеварения полностью расщепляются на аминокислоты, то можно было бы заме-

нить все белки пищи животного подходящей смесью аминокислот, не нарушая условий его питания. Такой эксперимент был поставлен Абдергальденом на голодающих собаках, которых кормили аминокислотами. Было найдено, что животное легко покрывало свою потребность в необходимом азоте, если его принуждали съедать достаточное количество искусственной пищевой смеси, не содержавшей белков и состоявшей только из тирозина, триптофана, гистидина, глицина и других аминокислот, взятых в соответствующих соотношениях. В другом эксперименте собака даже прибыла в весе в течение тех нескольких месяцев, когда ее кормили только смесью аминокислот, полученных при полном гидролизе мяса. Таким образом, Абдергальден продемонстрировал процесс, являющийся логическим следствием того, что пищевые протеины при переваривании полностью расщепляются на аминокислоты, т. е. он показал, что имеет место обратный синтез освобожденных аминокислот в белки тканей.

Существует еще одно веское возражение против допущения того, что в некоторых случаях и пептоны могут всасываться в том или ином количестве из пищеварительного канала. Дело в том, что пептоны, поступившие в кровяной ток, являются ядовитыми: они вызывают очень резкое падение кровяного давления, нарушают нормальную свертываемость крови и проницаемость стенок капилляров, увеличивая лимфообразование, вызывают симптомы, сходные с крапивной лихорадкой. Так как пептоны являются веществами, нежелательными для организма, то он избавляется от них не путем их превращения в тканевые белки, а путем выделения с мочой,—наступает так называемая пептонурия. Поскольку при обильной белковой диэте этих явлений не наблюдается, следует заключить, что пептоны не являются той формой, в виде которой белки поступают в кровяной ток.

Когда биохимики впервые выдвинули идею, что белки полностью перевариваются до аминокислот, то сначала казалось, что при таком глубоком распаде сложных белков значительная часть химической энергии белков мяса должна утратиться. Но это не подтвердилось. Гидролиз сопровождается очень незначительным изменением общей химической энергии реагирующих веществ. Действительно, если мы возьмем навеску белка и сожжем ее в калориметрической бомбе, а затем проделаем то же самое с белком, предварительно гидролизованным на аминокислоты, то в обоих случаях мы получим после сжигания почти одно и то же количество тепла. Таким образом, процесс переваривания белков не ведет к непроизводительной трате энергии пищи.

Теперь мы можем оценить биологическое значение полного расщепления белков в пищеварительном канале. Этот процесс необходим не только потому, что белки пищи перевариваются в растворимые и диффундирующие вещества, которые могут быть транспортированы затем к тканям, но и потому, что только после этого они могут быть усвоены, ассимилированы тканями.

Неудивительно, что необходимой предпосылкой превращения сложных белков пищи в такие же сложные, но глубоко отличные от них белки тканей человека является распад пищевых белков на составляющие их единицы, за которым последует построение из них заново тех специфических белковых структур, которые являются основой всех наших жизненных процессов.

ГЛАВА IV

ОБМЕН БЕЛКОВ; ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ОРГАНИЗМЕ

Теперь можно заняться рассмотрением метаболизма белков. Распад белков пищи на их составные части при переваривании не является, строго говоря, процессом метаболическим, так как он происходит в полости пищеварительного канала—пространстве, морфологически внешнем по отношению к тканям тела, а термин «метаболизм» распространяется только на процессы обмена веществ самих живых клеток. Во время переваривания белки, как, впрочем, и все пищевые вещества, скорее подготавливаются к метаболическим изменениям, чем им подвергаются. И только после всасывания аминокислот из пищеварительного канала начинаются собственно процессы обмена. Мы увидим далее, что конечные продукты метаболизма поступают в мочу; именно с ней выделяется большинство веществ, возникающих в результате жизнедеятельности организма, за исключением, конечно, угольного ангидрида и водяных паров, покидающих организм через легкие, а также таких веществ, как железо и кальций, выделяемых толстыми кишками. Нашей задачей является проследить все химические процессы, происходящие между всасыванием аминокислот и образованием составных частей мочи. Мы не можем рассчитывать здесь на исчерпывающую полноту, так как некоторые этапы химических превращений тесно связаны с синтезом живой протоплазмы, относительно строения которой мы в сущности плохо ориентированы. Тем не менее существуют некоторые основные линии процессов промежуточного обмена, которые мы можем проследить. Следует заметить, что выделение с мочей всех конечных продуктов метаболизма послужило причиной того, что ее анализ занимает такое важное место не только в биохимии, но и в медицине: с мочей выделяются не только продукты нормального обмена, но и патологические вещества, возникающие вследствие неправильного обмена и служащие проявлением болезни.

Чтобы ясно представить себе, что собственно следует включить в изучение метаболизма белков, надлежит прежде всего дать себе отчет, как используются пищевые вещества в организме. При обычных обстоятельствах бо́льшая часть их употребляется как горючий материал. Они сгорают, чтобы доставить телу энергию, необходимую для мышечного движения, и тепло, нужное для поддержания постоянной температуры. Другая, менее значительная часть пищевых веществ используется для восстановления изношенных

тканей организма. Не касаясь пока вопроса о материале, необходимом для растущего организма, и обратившись к взрослому организму, мы можем сказать, что ткани организма подвергаются постоянному распаду и изнашиванию. Протоплазма является весьма нестойким комплексом, длительное существование которого обусловлено только тем, что он непрерывно воссоздается в одном месте, чтобы разрушиться в другом. Эти потребности организма и обеспечиваются материалом, поступающим в организм в виде пищи. При обычных обстоятельствах бóльшая часть пищи используется как топливо, но некоторая часть утилизируется для весьма важных целей восстановления изношенных тканей.

Не подлежит сомнению, что белки в этих процессах играют чрезвычайно важную роль. Так как ткани тела состоят преимущественно из белков, то очевидно, что только белковая часть пищи может доставить материал, необходимый для возмещения изношенных тканей, в то время как все прочие питательные вещества, включая жиры и углеводы, используются только в качестве топлива. Жиры и углеводы не могут служить материалом для восстановления живой ткани уже потому, что они не содержат азота, являющегося необходимым компонентом белка.

Но не только в этом отношении белки занимают особенное место; они используются в организме и другими весьма важными способами. Белки доставляют организму готовые циклические структуры, которые сам организм не может синтезировать, но которые необходимы в качестве азотистых составных частей различных важных продуктов внутренней секреции, энзимов и т. д.

Мы начнем изучение обмена белков в организме с рассмотрения природы процессов расщепления, совершающихся в тканях; мы проследим затем, как утраченные составные части тканей замещаются аминокислотами, доставленными из пищеварительного канала, и, наконец, опишем те химические изменения, которым подвергаются ненужные аминокислоты тканей и избыточные аминокислоты пищи при их утилизации в качестве топлива.

Мы начнем с использования белков (или, точнее, аминокислот, возникших из них) при построении составных частей тканей.

Имеются случаи, когда необходимость в избыточной доставке аминокислот, идущих на образование белков, совершенно очевидна, например, в растущем организме, общая сумма белков которого все время увеличивается. Это относится также и к выздоравливающим, нуждающимся в аминокислотах для восстановления белков, распавшихся во время болезни. Но и обычно в нормальном взрослом организме постоянно происходит некоторый постепенный распад белков, так что организм нуждается для возмещения этой потери в некотором постоянном количестве аминокислот. Чтобы проникнуть в суть процессов, составляющих эту сторону обмена белков, необходимо получить представление, что же происходит при этом распаде. Вопрос ставится так: каков механизм и каковы продукты этого непрерывно идущего расщепления тканевых белков? Первым звеном в попытке дать ответ на этот вопрос будет

указание, что в сложной системе протоплазмы имеются не только белки, но и протеолитические энзимы. Ясно, что необходимо весьма точное соотношение разнообразных условий, чтобы протоплазма сама не стала жертвой собственных протеолитических ферментов. Малейшее нарушение этого соотношения, например, избыточное образование кислот в результате повышенной деятельности или недостаточного кровоснабжения, изменяет условия настолько, что протеины живой клетки становятся доступными действию собственных энзимов. Это можно легко продемонстрировать, если в асептических условиях (чтобы исключить действие бактерий) поместить кусок мышцы при температуре тела на несколько дней в термостат. При этом белки мышцы под влиянием собственных протеолитических энзимов, так называемого катепсина, распадаются до тех пор, пока не останется только смесь аминокислот. Этот процесс самопроизвольного распада изолированной ткани носит название а у т о л и з а. Если принять это во внимание, то не приходится удивляться, что процессы распада, происходящие во время обмена веществ, также заключаются в гидролизе белков на составляющие их аминокислоты. И действительно, основные изменения, которым подвергаются при этом белки, по существу нисколько не отличаются от изменений, происходящих в пищеварительном канале во время переваривания белков пищи.

Чтобы уяснить себе, каким образом возмещаются аминокислоты, утраченные белковой молекулой, составляющей живую протоплазму, следует проследить судьбу аминокислот, которые, как это видно из предыдущей главы, всасываются из кишечного канала при переваривании белков пищи. Током крови эти аминокислоты приносятся ко всем тканям тела; было установлено, что после всасывания белковой пищи каждая ткань перегружается запасами аминокислот, поступившими из крови. Процентное содержание этих несвязанных, свободных аминокислот в различных тканях, определяемое уже упоминавшимся способом с азотистой кислотой, в это время значительно возрастает. Это наглядно представлено на рис. 2, где показаны результаты эксперимента, в котором для удобства аминокислоты были введены непосредственно в кровь голодающего животного быстрее, чем это происходит при медленном процессе всасывания из пищеварительного канала. Следует заметить, что печень поглощает весьма значительное количество инъицированных аминокислот, но что в то же время нарастание концентрации аминокислот, благодаря последующим энергичным процессам, происходящим в печени, носит здесь лишь временный характер. С другой стороны, мышцы дольше задерживают поглощенные ими аминокислоты, по крайней мере у голодающего животного, ткани которого нуждаются в них для восстановления утраченных веществ. Несомненно, что после приема белковой пищи всосавшиеся аминокислоты таким же способом попадают в ткани, причем ткани как бы выбирают тот материал, который им необходим для восстановления. Излишние аминокислоты, являющиеся той частью белков пищи, которая предназначена лишь для использования

в качестве топлива, не поступают в ткани, а остаются в крови и, в конце концов, задерживаются печенью. Печень накопляет аминокислоты в относительно огромных количествах, — она получает все то, что не использовали другие органы.

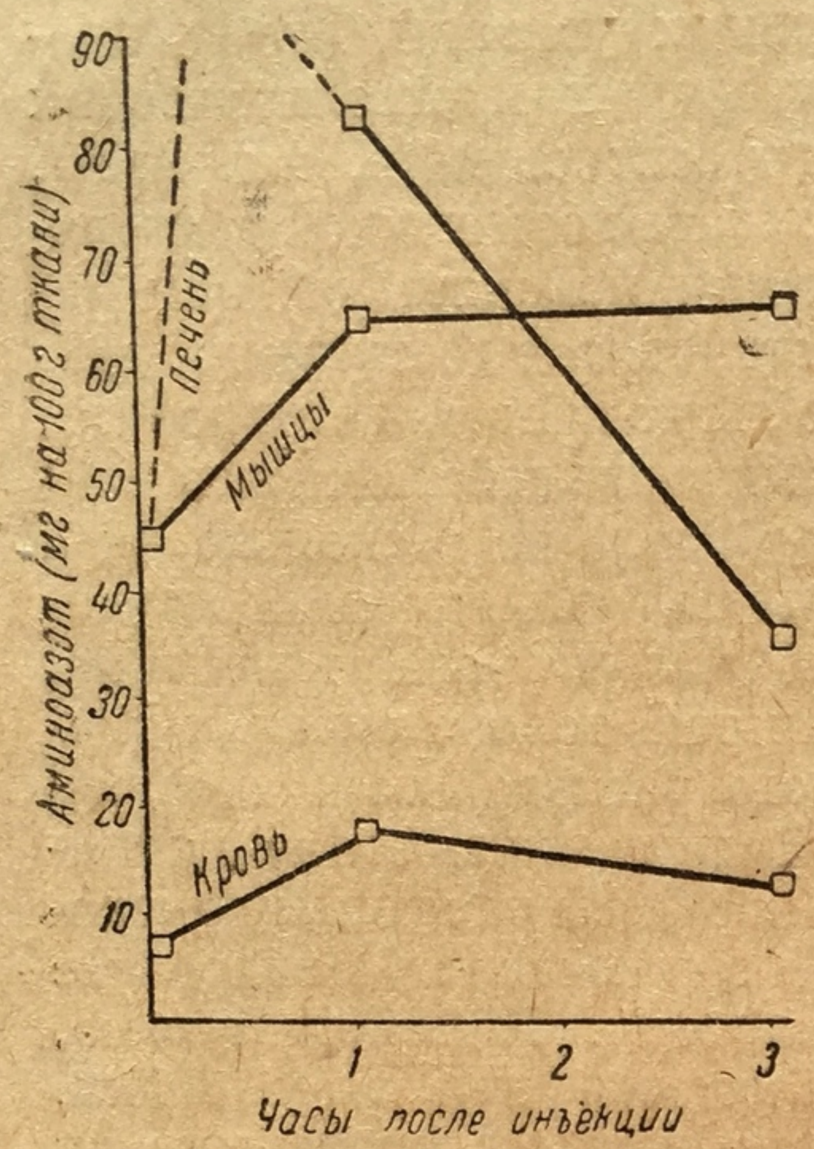


Рис. 2. Кривые показывают поглощение аминокислот различными тканями голодающего животного при введении их в кровяное русло (по определениям ван Слайка). Наиболее резко выражено повышение содержания аминокислот в печени; но благодаря тому, что аминокислоты в печени быстро дезаминируются, максимальную концентрацию их в этом органе установить точно трудно. С другой стороны, аминокислоты задерживаются мышцами, где они служат для постепенного обновления изнашивающегося мышечного вещества.

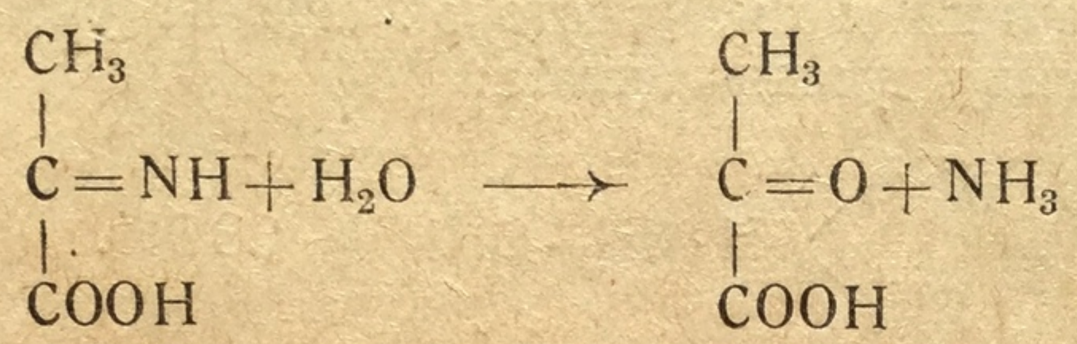
В печени подлежащие окислению аминокислоты подвергаются расщеплению; при этом процессе отщепляется их азот, который не может окислиться в организме и является, таким образом, бесполезным как источник энергии. Азот при отщеплении аминогруппы выделяется в виде аммиака, и процесс этот называется дезаминированием. Это одна из важнейших реакций в химии организма. Остаток аминокислотной молекулы после отщепления аммиака содержит только углерод, водород и кислород и становится доступным дальнейшему полному окислению. Частичное окисление происходит уже в тот момент, когда отщепляется аминогруппа: безазотистый остаток аминокислоты, подвергающийся дезаминированию, окисляется до кетокислоты, т. е. кислоты, в которой вместо аминогруппы стоит кетогруппа CO. Возьмем в качестве примера аланин (аминопропионовую кислоту). Он при дезаминировании дает аммиак и кетокислоту—так называемую пировиноградную:

$$\underset{\text{Аланин}}{CH_3 \cdot CHNH_2 \cdot COOH} + O \rightarrow \underset{\text{Пировиноградная кислота}}{CH_3 \cdot CO \cdot COOH} + \underset{\text{Аммиак}}{NH_3}$$

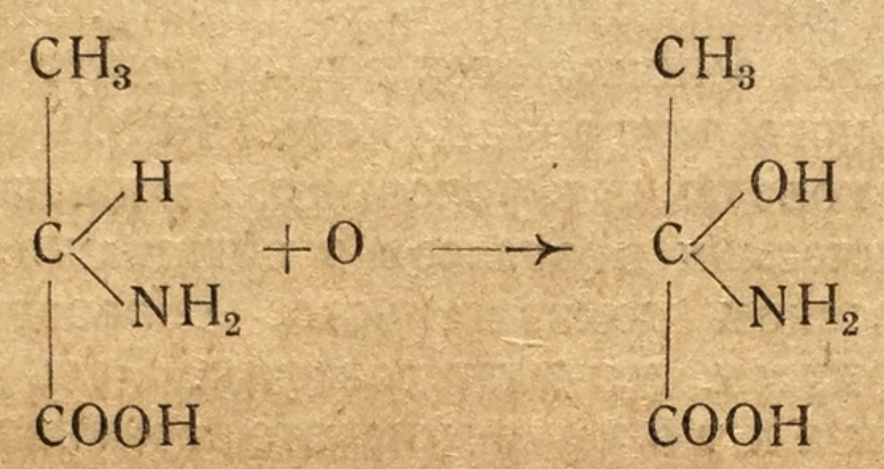
Эта внешне простая реакция происходит на самом деле в несколько этапов. Наиболее вероятно, что сперва происходит отнятие двух атомов водорода (дегидрирование) с образованием иминокислоты:

$$\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ C \begin{matrix} H \\ NH_2 \end{matrix} \\ | \\ COOH \end{array} \xrightarrow{-2H} \begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ C = NH \\ | \\ COOH \end{array}$$

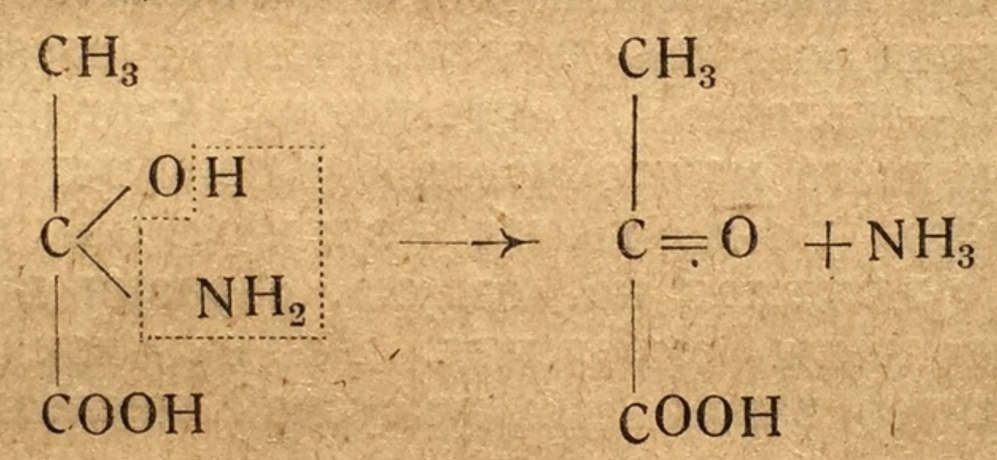
а затем иминокислота, присоединяя воду и отщепляя аммиак, дает кетокислоту:



Возможно также, что кислородный атом присоединяется сначала прямо к аланину, образуя оксиаминокислоту:



которая затем отщепляет аммиак:



Нам еще придется вернуться к этому вопросу, пока же отметим, что этот распад аминокислот легко воспроизвести экспериментальным путем. Если мы станем пропускать через переживающую печень раствор, содержащий аминокислоты, то в оттекающей жидкости мы найдем вещества, уже лишенные аминогрупп. При этих условиях кетокислоты обнаружить трудно, так как в печени они легко подвергаются дальнейшим изменениям. Во многих случаях они, например, превращаются в углеводы, о чем подробнее мы будем говорить ниже. Основным сейчас является то, что указанным путем из аминокислот образуются дезаминированные, т. е. безазотистые продукты. Значение печени в обмене аминокислот было показано в опытах на собаках. У животного печень полностью выключалась посредством сложной операции, при которой создавался окольный путь печеночного кровообращения. Такое животное совершенно неспособно регулировать обмен аминокислот. Если ему ввести в кровь аминокислоты, то они не исчезают тотчас же, как у нормальных животных, но долго остаются неизмененными в крови и тканях и затем переходят в больших количествах в мочу, выделяемую животными. Таким же путем было установлено, что в случаях острой желтой атрофии печени у людей аминокислоты усваиваются весьма неполно и некоторые

из них переходят в мочу в таком количестве, что при стоянии мочи они выкристаллизовываются. Это происходит, например, с аминокислотой лейцином, о которой еще не упоминалось. Это α-аминоизобутилуксусная кислота:

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>CH \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH.$$

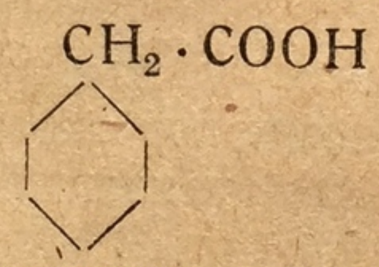
Лейцин

Неудивительно, если при этих условиях в моче обнаруживается и относительно трудно растворимый тирозин. Общее ненормально высокое содержание аминокислот в моче может быть обнаружено методом формольного титрования (стр. 18).

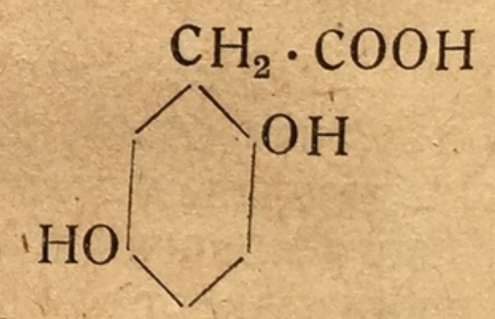
Тирозин и его поведение в условиях, когда нарушено нормальное течение химических процессов в организме, напоминает еще об одном интересном доказательстве образования кетокислот из аминокислот путем дезаминирования. Речь идет о наблюдениях при алькаптонурии; это сравнительно редкое и несомненно безвредное расстройство обмена. При этом заболевании моча, если она подщелочена или стала щелочной при стоянии, поглощая кислород воздуха, делается черной (отсюда и название болезни: alkali—щелочь, и греческое kappein—поглощать). Такое изменение цвета мочи обусловлено присутствием в ней вещества, называемого гомогентизиновой кислотой, которая легко окисляется на воздухе, образуя при этом темно окрашенные продукты окисления. Гомогентизиновая кислота является диоксидериватом фенилуксусной кислоты:

$CH_3 \cdot COOH$

Уксусная кислота

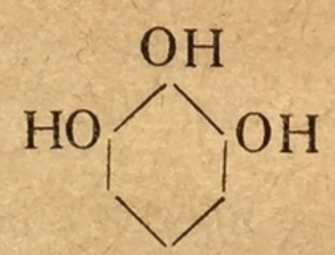


Фенилуксусная кислота



Гомогентизиновая кислота

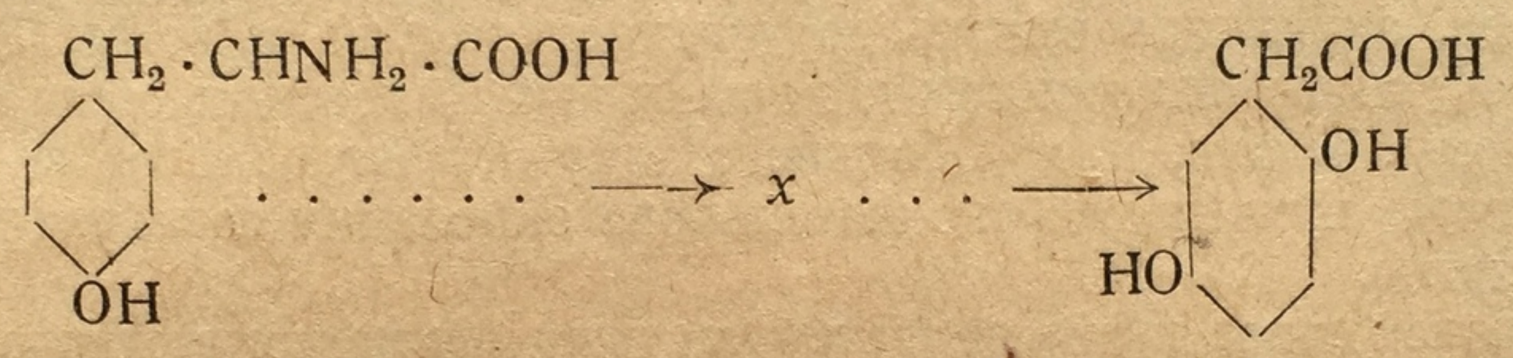
Нетрудно понять, почему это вещество так легко окисляется: оно содержит две OH-группы в кольце бензола, а все оксидериваты последнего весьма легко окисляются. Наглядным примером такого рода окисления является окисление пирогаллола, содержащего три гидроксила, присоединенных к кольцу.



Пирогаллол настолько легко окисляется в щелочных растворах и настолько жадно поглощает кислород воздуха, образуя при этом коричнево окрашенные продукты, что в газовом анализе он обычно употребляется в качестве поглотителя кислорода. Таким

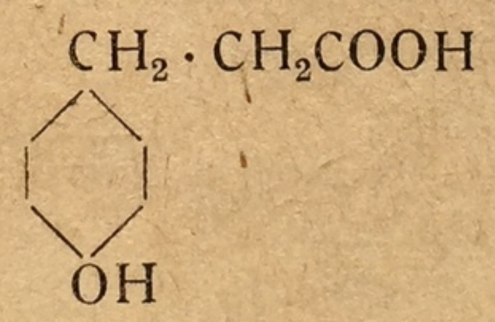
же образом гомогентизиновая кислота в щелочном растворе поглощает кислород, и моча больного алькаптонурией при стоянии на воздухе становится черной. Щелочную реакцию моча приобретает, постояв некоторое время, благодаря бактериям, отщепляющим аммиак из мочевины.

Твердо установлено, что гомогентизиновая кислота образуется у больного алькаптонурией из тирозина, так как достаточно исключить тирозин из диэты больного, и количество гомогентизиновой кислоты уменьшится, в то время как прибавление тирозина к пище вызывает соответствующее увеличение гомогентизиновой кислоты в моче. Поэтому мы вправе заключить, что тирозин при алькаптонурии служит источником гомогентизиновой кислоты, проходя через некоторые промежуточные этапы:

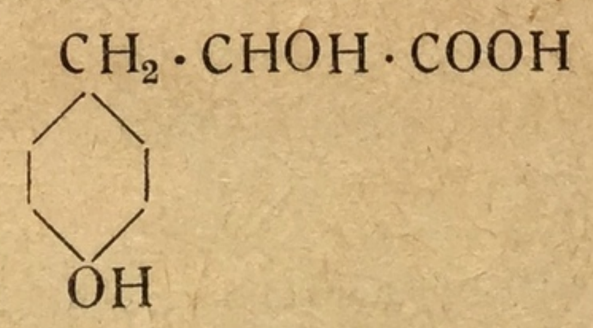


Тирозин — Гомогентизиновая кислота

Несомненно, интересно знать, каковы эти промежуточные этапы, обозначенные через x. Чтобы выяснить это, дадим больному некоторые родственные тирозину вещества и будем наблюдать, что получится. Ясно, что если удастся подобрать такое вещество, которое как раз и будет промежуточным продуктом между тирозином и гомогентизиновой кислотой, то получится такое же повышение выделения гомогентизиновой кислоты, как и от самого тирозина. Если же наше вещество не является промежуточным продуктом, то можно ожидать, что оно выделится с мочей неизмененным или в иной форме, чем гомогентизиновая кислота. Действительно, если кормить больного насыщенной кислотой

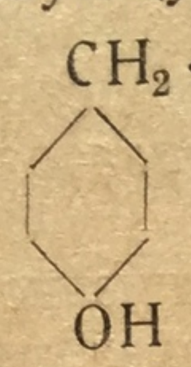


соответствующей тирозину, то это не вызовет увеличения гомогентизиновой кислоты в моче. Соответствующая оксикислота



также не превращается в гомогентизиновую кислоту при прохождении через организм человека, страдающего алькаптонурией.

Но если дать соответствующую кетокислоту

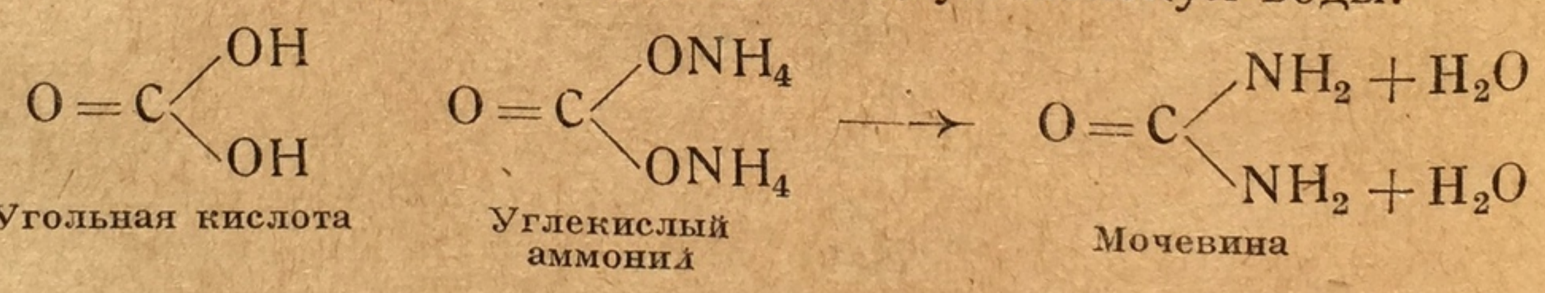


то обнаружится, что она количественно превращается в гомогентизиновую кислоту. Отсюда можно заключить, что кетокислота является промежуточным продуктом в метаболизме тирозина у больного алькаптонурией. Возможно, что и в нормальном организме тирозин подобным же образом сначала превращается через кетокислоту в гомогентизиновую кислоту, но последняя изменяется далее, окисляясь вплоть до углекислого газа и воды. Различие между алькаптонуриком и нормальным человеком состоит, повидимому, в том, что у больного отсутствуют некоторые энзимы, которые нужны для окончательного окисления гомогентизиновой кислоты.

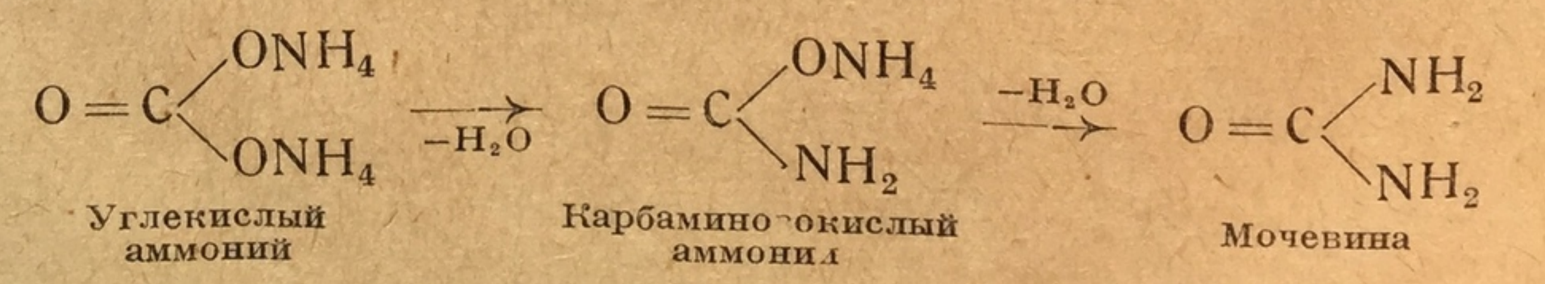
Изложенное выше является частным примером важного общего метода изучения обмена, благодаря которому мы в состоянии проследить нормальный путь обмена некоторых веществ, пользуясь наблюдением над больными, у которых нарушена именно данная, интересующая нас фаза обмена.

Теперь перейдем к рассмотрению дальнейшей судьбы аммиака и кетокислоты, получившихся при дезаминировании.

Займемся сначала аммиаком. Аммиак освобождается в ткани печени, где в изобилии имеется угольная кислота, с которой он образует углекислый аммоний. В 80-х годах прошлого столетия было показано, что если пропускать углекислый аммоний через изолированную печень, то он превращается в мочевину. Этот процесс можно рассматривать—долгое время так это и делалось—как простое отщепление двух молекул воды:



Предполагали, что процесс идет в два этапа, причем промежуточной ступенью является карбаминовокислый аммоний, образующийся при выделении одной молекулы воды из углекислого аммония:



Однако уже более четверти столетия тому назад стало известно, что печень млекопитающих содержит энзим, способный образо-

вывать мочевину прямо путем гидролиза (без промежуточного освобождения аммиака) из особой аминокислоты, известной под названием аргинина.

Так как до сих пор об этой аминокислоте еще не говорилось, то поясним ее строение. Она является производным пятиуглеродной жирной кислоты, валериановой, содержащей в α-положении обычную аминогруппу, а в δ-положении, на другом конце цепи — гуанидиновую группу

$$NH{=}C\begin{matrix}\diagup NH_2\\ \diagdown NH_2\end{matrix}$$

которая отличается от мочевины только наличием двухвалентной иминогруппы NH на месте атома кислорода. Формула аргинина следующая:

$$HN{=}C\begin{matrix}\diagup NH_2\\ \diagdown \overset{\delta}{NH}\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot \overset{\alpha}{CH}NH_2\cdot COOH\end{matrix}$$

Аргинин

Укажем здесь кстати на качественную реакцию на аргинин, которая состоит в том, что получается яркокрасная окраска, если аргинин или белок, в котором он содержится, смешать с крепким щелочным раствором хлорноватистого натрия и несколькими каплями спиртового раствора α-нафтола. Если аргинин подвергается действию соответствующего энзима, аргиназы, то получается мочевина и диаминокислота — орнитин:

$$HN{=}C\begin{matrix}\diagup NH_2\\ \diagdown NH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CHNH_2\cdot COOH\end{matrix} + H-O\begin{matrix}\diagup\\ \diagdown H\end{matrix} \rightarrow$$

H_2O + аргинин

$$\rightarrow O{=}C\begin{matrix}\diagup NH_2\\ \diagdown NH_2\end{matrix} + NH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CHNH_2\cdot COOH$$

Мочевина Орнитин

Таким образом можно объяснить лишь образование мочевины из одной аминокислоты, именно аргинина, но не из всех аминокислот вообще. Однако совсем недавно было открыто, что диаминокислота орнитин действует как мощный катализатор при образовании мочевины срезами печени из аммиака и угольной кислоты. Отсюда следует, что орнитин является важным промежуточным звеном при образовании мочевины из аммонийных соединений. Орнитин соединяется с аммиаком и углекислотой,

давая некоторое вещество, которое распадается с образованием мочевины и вновь освобождает орнитин. Если предположить, что этим веществом является сам аргинин, то тотчас же станет понятным важное значение существования энзима аргиназы в печени; этот фермент мог бы участвовать при образовании мочевины не только из одного аргинина, но через аммиак, вообще из всех аминокислот. Замечательно, что у птиц, у которых главным конечным продуктом азотистого обмена является мочевая кислота, а не мочевина, печень не содержит аргиназы.

Таким образом, мы пришли к заключению, что аммиак и угольная кислота соединяются с орнитином, давая аргинин, который затем расщепляется на мочевину и орнитин, а последний используется снова и снова. Но в образовании аргинина из орнитина следует отметить еще одно важное обстоятельство,—а именно то, что процессс совершается в два этапа. Сначала получается вещество, называемое ц и т р у л л и н о м, строение которого подобно аргинину, за исключением того, что оно вместо гуанидина содержит остаток мочевины:

$$O{=}C\begin{cases}NH_2\\ NH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CHNH_2\cdot COOH\end{cases}$$

Цитруллин

Эта аминокислота получила свое название от обычного зеленого арбуза (citrullus vulgaris), где она была впервые обнаружена. Цитруллин образуется соединением аммиака и углекислоты с орнитином и, присоединяя еще одну молекулу аммиака, превращается далее в аргинин.

$$\underbrace{\begin{matrix}NH_2\\ O{=}C{=}\\ \end{matrix}\begin{matrix}H\\ O\\ H\end{matrix}}_{CO_2\,+\,NH_3\,+\,\text{орнитин}}\ NH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CHNH_2\cdot COOH \rightarrow$$

$$\rightarrow \underbrace{\begin{matrix}HN\\ \\ O\end{matrix}\begin{matrix}H_2\\ \\ {=}C\end{matrix}\begin{cases}NH_2\\ NH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CHNH_2\cdot COOH\end{cases}}_{NH_3\,+\,\text{цитруллин}}$$

$$\rightarrow HN{=}C\begin{cases}NH_2\\ NH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CHNH_2\cdot COOH\end{cases}$$

Аргинин

Значение цитруллина как промежуточного продукта вытекает из наблюдений, показавших, что в контакте с печеночной

тканью он очень быстро дает мочевину. Полный цикл образования мочевины таков:

$$NH_3 + CO_2 + \text{орнитин} \rightarrow \text{цитруллин} \xrightarrow{+NH_3} \text{аргинин} \rightarrow$$
$$\xrightarrow{\text{аргиназа}} \text{орнитин} + \text{мочевина}$$

Таким образом, мы видим, что дальнейшее превращение аммиака, освобождающегося при дезаминиро ании, отнюдь не является простой дегидратацией, как это указывалось выше, но сложным процессом, конечный результат которого, впрочем, тот же: соединение аммиака с углекислотой дает нейтральную, растворимую и легко выделяющуюся мочевину. Последняя составляет у млекопитающих преобладающую часть всех конечных азотистых продуктов обмена и выделяется у человека в количестве около 30 г в день.

Что процесс превращения аммиака в мочевину происходит преимущественно в печени, было окончательно установлено описанными выше опытами со срезами. Однако еще ранее к этому же заключению пришли путем экспериментов на животных. В этих опытах искусственно уменьшалась, хотя и не выключалась совсем, циркуляция крови через печень путем соединения воротной вены непосредственно с нижней полой веной (так называемая экковская фистула); аналогичные результаты получались и при полном удалении печени, но эта операция гораздо грубее предыдущей. Животные с экковской фистулой практически были совершенно нормальными, пока они получали в пищу только углеводы, но достаточно было дать им белковую пищу, как они обнаруживали болезненные симптомы: они становились инвалидами, поскольку дело касалось процессов использования аминокислот. Собаки, совершенно лишенные печени, оказывались абсолютно неспособными к новообразованию мочевины, и так как мочевина, содержавшаяся раньше в тканях тела, постепенно выделялась с мочей, то ее концентрация в крови и тканях неизменно падала.

Вопрос о мочевине у животных, лишенных печени, тесно связан с вопросом об аммиаке. Было обнаружено, что удаление печени не приводит к заметному уменьшению выделения аммиака с мочей. Очевидно, аммиак, выделяемый с мочей, образуется не в печени,— это не тот аммиак, который, образовавшись путем дезаминирования аминокислот в печени, не успел еще превратиться в мочевину. В этих условиях (при удаленной печени) в крови и тканях имеется лишь небольшое увеличение концентрации аммиака, показывающее, что ткани тела в общем не образуют больших количеств аммиака; даже и это небольшое повышение отсутствует, если у животного одновременно удалены и печень, и почки. Это наводит на мысль, что аммиак мочи образуется в почках; и, действительно, было доказано, что срезы почек способны дезаминировать аминокислоты с образованием аммиака и кетокислот; в некоторых случаях (например, у крыс) такое дезаминирование происходит в почечной ткани даже значительно быстрее, чем в ткани печени.

Говоря об образовании мочевины, необходимо упомянуть, что и обратная реакция—возникновение углекислого аммония из мочевины—также хорошо известна. Это происходит, например, при стоянии мочи; под действием фермента уреазы, который содержится в бактериях, развивающихся в моче при стоянии, мочевина распадается и превращается в углекислый аммоний; в моче появляется аммиак, и она становится щелочной. Эта реакция используется в новейших методах определения мочевины в моче и крови. Необходимую для этих целей уреазу получают в виде экстракта соевых бобов, где она содержится в изобилии. Посредством уреазы мочевина превращается в углекислоту и аммиак, который потом поглощают отмеренным объемом титрованной кислоты и определяют количественно. Каждая молекула мочевины дает две молекулы аммиака, так что по количеству аммиака легко можно подсчитать содержание мочевины. Другой давно применяемый способ определения мочевины—это гипобромитный метод, при котором мочевина определяется по объему азота, выделившемуся из нее под действием бромноватистого натрия.

Мы так долго останавливались на образовании мочевины и ее отношении к аммиаку потому, что эти вещества играют в организме очень важную роль. Теперь нам остается остановиться на кетокислотах, которые составляют другой продукт дезаминирования. Кетокислоты важны потому, что они являются, так сказать, точкой пересечения двух основных путей метаболизма—обмена углеводов и обмена белков. Мы сказали, что протеины дают начало аминокислотам. Аминокислоты при дезаминировании дают кетокислоты, которые затем окисляются до углекислоты и воды. Однако если немедленное окисление кетокислот не является необходимым для организма, то они накапливаются и откладываются в запас в форме углеводов. Цепи углеродных атомов кетокислот соединяются, образуя глюкозу, из которой в печени или других тканях легко образуется г л и к о г е н (см. стр. 102). В случае аланина это превращение очень просто, так как в молекуле аланина уже содержится цепь из трех углеродных атомов, и достаточно соединения двух таких молекул, чтобы получить шестичленную цепь глюкозы.

В случае аминокислот с четырьмя углеродными атомами было найдено, что только три из этих атомов используются для образования глюкозы, четвертый же окисляется. Точно так же при пятиуглеродной цепи два атома отщепляются, и остаются три, нужные для образования глюкозы. Любопытно следующее: обнаружено, что двухуглеродная аминокислота—глицин,—тоже дает сахар, очевидно, после дезаминирования и соединения трех молекул в одно целое, хотя процесс здесь, конечно, не так прост, как это кажется на первый взгляд. С другой стороны, существуют аминокислоты (среди них—тирозин и триптофан), содержащие циклические структуры, которые не образуют глюкозы. Мы здесь не останавливаемся на методе, посредством которого исследовалась способность аминокислот превращаться в сахар. Дело в том, что

для этого пользуются диабетическими животными, и поэтому суть опытов легче будет понять, когда мы ознакомимся с диабетом (глава XI).

До сих пор мы имели дело с аминокислотами, поступавшими из пищеварительного канала и предназначавшимися для энергетических целей. Но следует подчеркнуть, что аналогичный процесс дезаминирования является неизбежным уделом и тех аминокислот, которые отщепились от белков тканей в процессе жизнедеятельности. Их азот также отщепляется в виде аммиака, а оставшиеся кетокислоты превращаются в сахар и гликоген и, наконец, сгорают. Таким образом, мочевина происходит из двух главных источников. При обычной диэте бóльшая часть ее возникает из азота тех пищевых белков, которые используются только для целей энергетических; эта мочевина образуется из аминокислот, которые никогда не были составной частью живой ткани в организме; она возникает при помощи тканей, но не из их вещества. Такого рода продукт обмена, соответственно своему происхождению, носит название э к з о г е н н о г о. С другой стороны, некоторое количество мочевины происходит, как мы это видели, из аминокислот, которые освобождаются в процессе распада самого живого вещества. Эту часть мочевины называют э н д о г е н н о й, так как она образуется за счет структуры самой протоплазмы.

ГЛАВА V

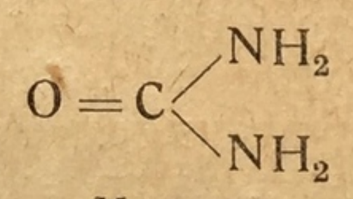
ОБМЕН БЕЛКОВ (ПРОДОЛЖЕНИЕ): ПРОДУКТЫ РАСПАДА ТКАНЕЙ—КРЕАТИНИН, НЕЙТРАЛЬНАЯ СЕРА

Из предыдущей главы известно, что главным азотистым продуктом распада тканевых белков является мочевина. Но, кроме того, как уже указывалось, мочевина образуется также и в результате использования для энергетических целей избыточных аминокислот пищи. Суточное выделение мочевины будет поэтому изменяться не только в зависимости от интенсивности тканевого распада, но также и от количества белков съеденной пищи. В общем, невозможно определить, какая часть выделенной мочевины имеет экзогенное и какая эндогенное происхождение. Тщательные исследования, однако, показали, что имеются и такие составные части мочи, которые выделяются ежедневно в одном и том же количестве, независимо от того, бедна или богата белками диэта. Эти вещества, очевидно, не могут возникнуть непосредственно из пищи, иначе их выделение находилось бы в каких-то количественных отношениях к составным частям употребленной пищи. Поэтому их следует рассматривать как конечные продукты процессов, протекающих в самых тканях, т. е. они должны быть только эндогенного происхождения; в силу этого количественный учет их выделения указывает размер происходящего в организме распада тканей. Этими-то веществами мы и займемся в настоящей главе. Совершенно очевидно, что, весьма важно иметь какой-либо способ измерения

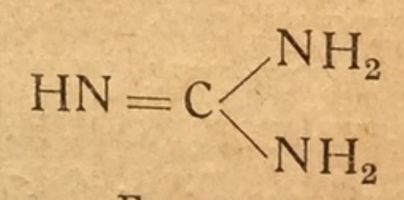
интенсивности эндогенного метаболизма, так как метаболизм соответствует тканевому распаду, а зная степень тканевого распада, можно соответствующим образом подобрать диэту, чтобы обеспечить покрытие происходящих в тканях трат.

После всего сказанного легко понять, каким образом можно распознать продукты эндогенного метаболизма. Следует изменять количество белков в диэте исследуемого лица и определять, какие компоненты мочи выделяются в постоянных количествах независимо от изменений питания. Это и было сделано Фолином, который установил, что главной и количественно постоянной при различных диэтах составной частью мочи является к р е а т и н и н. Действительно, суточное выделение этого вещества настолько постоянно, что им пользуются для контроля полноты собирания суточной мочи; выделяемое количество приблизительно пропорционально массе мышечной ткани тела обследуемого су ъекта. Так, например, на диэте, бедной белками, один исследованный Фолином субъект выделил в сутки 1,6 г креатинина, а на диэте, богатой белками, он дал практически то же самое количество этого вещества, именно 1,55 г. Контраст между постоянством выделения креатинина и изменчивостью количества мочевины поразителен: тот же самый субъект на бедной белками диэте выделил 4,7 г мочевины в сутки, в то время как при получении более обильной белками пищи эта цифра возросла до 31,6 г. Эти факты совершенно определенно говорят, что креатинин является истинным эндогенным продуктом обмена. Что он действительно является конечным продуктом метаболизма, показывает и то, что креатинин, принятый через рот, покидает организм с мочей неизмененным. Последнее обстоятельство не уменьшает значения креатинина как мерила эндогенного метаболизма, так как он не встречается в сколько-нибудь значительных количествах в обычных продуктах питания.

Для понимания дальнейшего необходимо в общих чертах коснуться химии креатинина. Креатинин—циклическое соединение, в строении которого легче разобраться, начав с относительно более простых веществ. Следует напомнить, что при замещении двухвалентного кислородного атома в молекуле мочевины двухвалентной иминогруппой NH, получается основание, состоящее только из углерода, водорода и азота; оно известно под названием г у а н и д и н а:

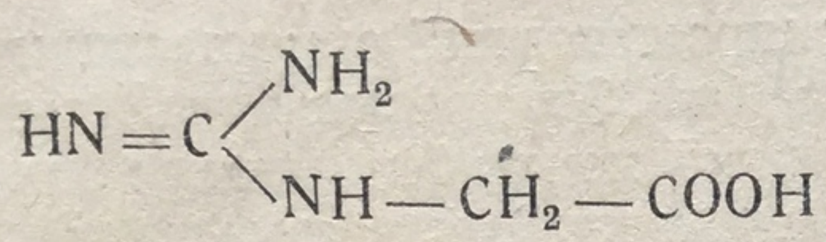


Мочевина



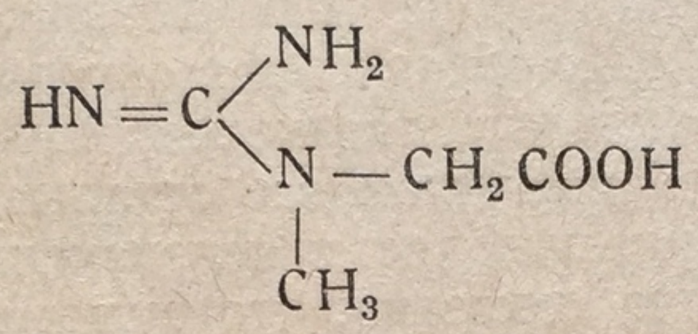
Гуанидин

Гуанидин может входить в состав более сложных молекул; так, например, одним из его наиболее важных дериватов является гуанидинуксусная кислота:



Гуанидинуксусная кислота

Замещение метилом оставшегося водородного атома в первоначальной группе NH_2, соединившейся с уксусной кислотой, дает метилгуанидинуксусную кислоту, или креатин



Метилгуанидинуксусная кислота (креатин)

вещество, к которому мы еще вернемся (см. стр. 108).

Креатинин является внутренним ангидридом креатина.

Креатин Креатинин

Одно обстоятельство делает креатинин особенно ценным в качестве мерила интенсивности эндогенного метаболизма—это простота его определения. Чтобы определить количество креатинина в пробе мочи, необходимо только добавить к ней некоторое количество едкого натра и пикриновой кислоты; при этом получается оранжево-желтое окрашивание, обусловленное образованием пикриновокислого креатинина. Интенсивность этой окраски сравнивается посредством колориметра с окраской стандартного раствора, поскольку степень окраски пропорциональна количеству креатинина. Таким образом, имеется возможность непосредственно вычислить процентное содержание креатинина в исследованной моче.

Не легко распознать все ступени тех химических превращений, которые происходят при образовании продуктов тканевого метаболизма; не является исключением и вопрос о происхождении креатинина, о чем свидетельствует ряд разнообразных теорий, которые выдвигались время от времени по этому вопросу. Все мышцы тела содержат весьма значительные количества вещества, стоящего в близком генетическом отношении к креатинину,—именно креатина (от греческого creas—мясо, мышцы), о котором уже упоминалось и который не следует смешивать с самим креатинином. Легко запомнить и то, и другое название, если учесть, что суф-

фикс «и н» означает «происшедший от»: креатинин,—это ангидрид, происшедший от креатина. Эти два вещества весьма родственны химически—креатин легко может быть дегидратирован в креатинин кипячением с небольшим количеством крепкой кислоты или даже выпариванием его раствора. Поэтому вполне естественно предположить, что они также родственны и в процессе метаболизма. Но здесь возникает прежде всего вопрос, какое же из этих двух веществ образуется из другого,—другими словами, какое из них следует рассматривать как исходный материал и какое—как конечный продукт этого особого вида метаболизма. Сначала думали, что креатинин постоянно образуется в организме и превращается в креатин, который откладывается в запас в мышцах. Затем, когда мышцы «насыщаются» креатином, все остальное количество образовавшегося креатинина выделяется неизмененным с мочей. Но так как впоследствии было показано, что существует весьма тесный параллелизм между содержанием креатина в мышце животного и выделением креатинина с мочой, то это наблюдение дало повод рассматривать креатин мышцы как первичный продукт и предшественник креатинина мочи. Сначала было трудно согласовать это мнение с тем фактом, что при введении с пищей различных количеств креатина не наблюдается сколько-нибудь значительного изменения выделения креатинина с мочей. Но позже было установлено, что мышцы образуют весьма значительной емкости «резервуар» для креатина—резервуар, который сверх того обычно не совсем заполнен, так что однократные дозы креатина легко откладываются мышцей в запас и не вызывают какого-либо подъема выделения возникших из креатина продуктов. В настоящее время установлено, что если креатин назначать не отдельными однократными дозами, но непрерывно в течение свыше трех недель, то «резервуары» в мышцах окажутся заполненными креатином, а затем при продолжающемся введении креатина наступит соответственное повышение выделения креатинина с мочей как у человека, так и у животного.

Поэтому в настоящее время принимают, что креатин тканей является предшественником креатинина мочи. Естественно было бы предположить, что в теле существует какой-то энзим, обусловливающий это превращение креатина в креатинин, но никто еще не доказал его существования. Впрочем, легкость дегидратирования креатина в креатинин в лаборатории заставляет думать, что креатинин в условиях организма мог бы постепенно образовываться из креатина, отложенного в мышцах, без помощи катализатора. Это предположение находит себе подтверждение в том, что в противоположность многим реакциям обмена, протекающим в печени, превращение креатина не локализовано в последней; полное удаление печени не влияет на выделение креатинина в период переживания.

Поскольку предполагается, что креатинин мочи возникает из креатина мышцы, интересно знать, влияет ли мышечная деятельность на выделение этого вещества. Одно время существовало мне-

ние, что превращение креатина в креатинин связано с тем особым длительным сокращением мышцы, которое известно как «мышечный тонус»; поэтому считалось, что выделение креатинина у человека, стоящего «смирно», больше, чем при гимнастических упражнениях. Эксперименты, на которых основывалось это предположение, теперь не считаются доказательными, хотя несомненно, что в период мышечной деятельности выделение креатинина до некоторой степени повышено по сравнению с периодом покоя. Но вслед за этим наступает период уменьшенной экскреции креатинина, так что если взять для расчета длительный срок (свыше 24 часов), то количество выделенного креатинина будет одинаково, независимо от того, занимается ли данное лицо физическими упражнениями или нет. Неизбежное изнашивание мышечной ткани тем больше, чем напряженнее ее работа; но во время отдыха мышца восстанавливает свои силы.

Допущением происхождения креатинина мочи из креатина объясняется, однако, только конечная ступень в несомненно сложной серии изменений, так как это не дает возможности сказать что-либо относительно возникновения самого тканевого креатина. И в самом деле, пути его образования пока совершенно не известны. Как указывалось, креатин—это замещенная метилом гуанидинуксусная кислота, и поскольку человеческий организм получает с пищей очень мало веществ типа метильных дериватов, за исключением мышечного креатина, который содержится в мясе, то естественно считать, что метилирование происходит в тканях. Что организм может вводить метильные группы в те или иные соединения, это несомненно; например, пиридин, принятый per os, частично выделяется в виде метилпиридина; то же известно и относительно ряда других веществ. Однако детали этого процесса до сих пор не выяснены.

О физиологии самого креатина будет более подробно сказано при рассмотрении химизма мышечного сокращения. Сейчас достаточно указать лишь на то, что креатин появляется в моче при некоторых условиях, например, во время голодания, при инволюции матки после беременности, когда значительные количества мышечной ткани распадаются и креатин поступает в кровь в ненормально больших количествах. Креатин является также нормальной составной частью мочи детей обоего пола и появляется периодически в моче взрослых женщин. Но он никогда не встречается в моче нормальных взрослых мужчин.

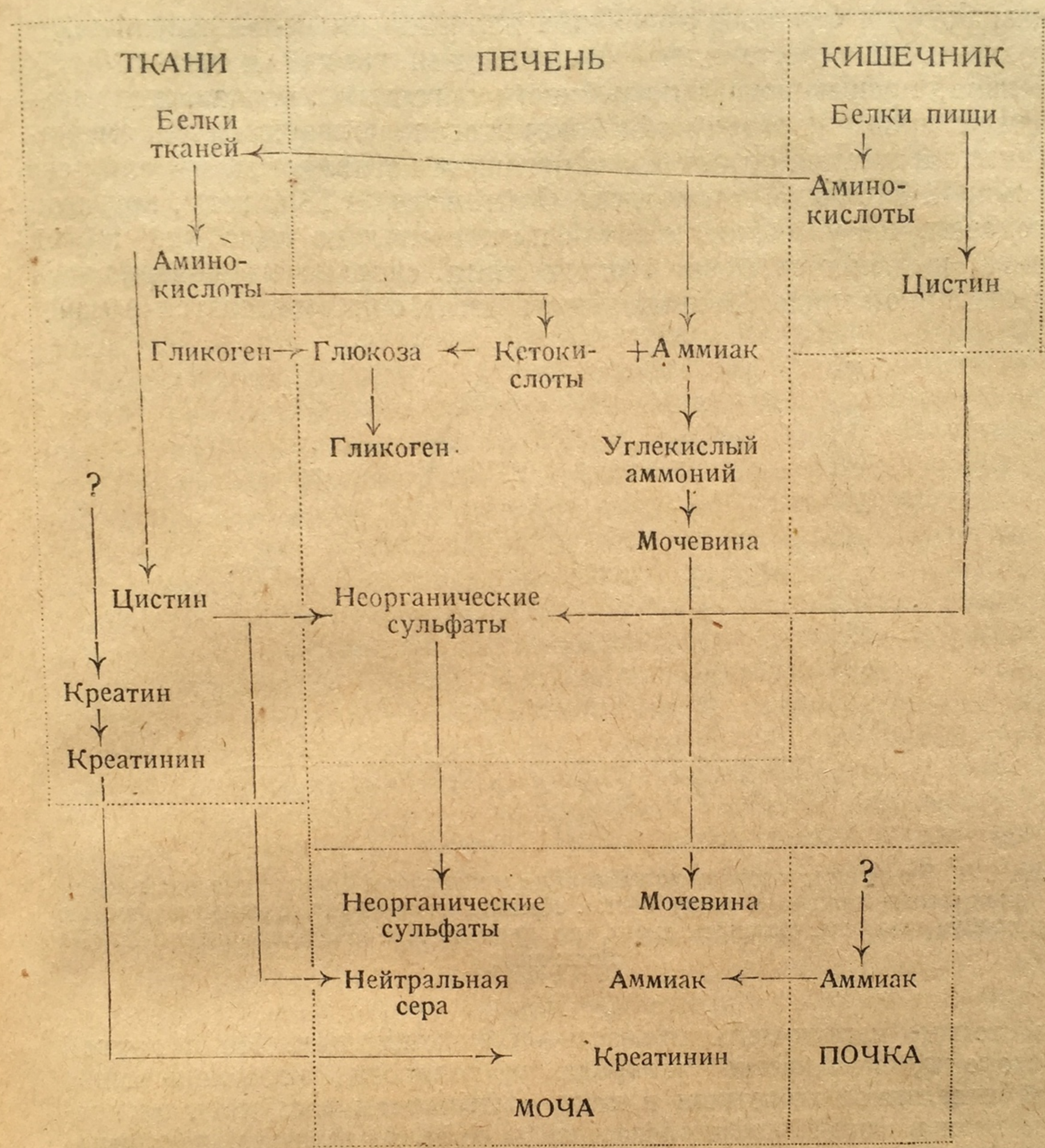
Среди составных частей мочи другой категорией соединений, количество которых не зависит от изменений в составе пищи и которые поэтому тоже относятся к эндогенным конечным продуктам тканевого обмена, являются соединения, содержащие серу. Сера поступает в организм и находится в нем главным образом в виде содержащих серу аминокислот — цистина и метионина. Цистин, если он всасывается из пищеварительного канала в количестве, превышающем потребности тканей, быстро окисляется в печени, и его сера вскоре выделяется

с мочей в виде неорганических сульфатов. Но если тем или иным способом определить общее количество серы в данной пробе мочи, то оно всегда окажется больше, чем количество серы в виде сульфатов. Другими словами, моча содержит соединения серы, в которых последняя соединена химически не с кислородом (как в серной кислоте и ее солях), а с водородом или (как в самом цистине) с углеродом. Такая сера, не входящая в состав серной кислоты или ее солей, называется нейтральной серой. В моче встречаются небольшие количества разнообразных соединений серы, например, роданистые соли, тиосульфаты, меркаптаны (стр. 17) и диэтилсульфид $C_2H_5—S—C_2H_5$ (содержащий серу аналог обычного эфира). Что все эти вещества в совокупности представляют продукты тканевого обмена, доказывается наблюдениями, аналогичными наблюдениям Фолина. Было найдено, что количество неорганических сульфатов, выделявшихся субъектом, менялось в зависимости от количества получаемых им белков, составляя 3,3 г в день, когда он получал богатую белками диэту, и снижаясь до 0,5 г при бедной белками пище. В противоположность этому суточное выделение нейтральной серы фактически оставалось все время постоянным, составляя 0,18 г при богатой и чуть больше (0,20 г) при бедной белками пище. Величина выделения соединений, объединяемых под названием нейтральной серы, дает нам поэтому представление о количественной стороне каких-то тканевых процессов обмена; впрочем, в клинической практике эти наблюдения имеют небольшое применение, так как определение серы является относительно сложной процедурой.

Прежде чем покончить с соединениями серы в моче, нужно упомянуть, что существует редкое расстройство обмена, известное под названием цистинурии, при котором организм теряет способность усваивать цистин белка, так что эта аминокислота выделяется в значительных количествах с мочей и может даже кристаллизоваться в форме мочевых отложений и камней. Любопытной особенностью при этом нарушении обмена является то обстоятельство, что хотя цистин, входящий в состав белков, усваивается больным с трудом, свободный цистин может быть усвоен им почти полностью.

Сводка важнейших химических превращений, которым белки подвергаются в организме

Процессы, описанные в последних трех главах, могут быть представлены в виде приводимой ниже диаграммы. Следует подчеркнуть, впрочем, что эта диаграмма является лишь одним из возможных способов изобразить в общих чертах обмен белков и что читатель только в том случае извлечет из книги все, что она может дать, если сам составит подобную систематическую сводку, следуя шаг за шагом за изложением.



ГЛАВА VI

ПРЕВРАЩЕНИЯ АЗОТА В ОРГАНИЗМЕ КАК ЦЕЛОМ; АЗОТИСТОЕ РАВНОВЕСИЕ; БЕЛКОВОЕ ГОЛОДАНИЕ; ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ

В предыдущей главе были рассмотрены химические свойства белков и аминокислот и указаны те изменения, которым они подвергаются в организме. Но еще задолго до того, как столь детально были выяснены эти вопросы, уже было обращено внимание на общий обмен белков в организме и на вопрос о количестве белков, необходимом для нормального питания; подробное рассмотрение этих проблем мы отложили, ибо лишь теперь, после всего изложенного выше, они станут нам вполне понятными. Вкратце уже говорилось о том, что самым важным

назначением белков в организме является их использование для возмещения естественного изнашивания тканей и что избыток белков, превышающий потребности организма, распадается, причем углерод и водород в конечном итоге используются как энергетический материал, а от азота организм избавляется, выделяя его с мочей. Это было установлено Фойтом еще в 1862 году, когда он показал, что у собаки, которой предварительно было дано $1^1/_2$ кг мяса, выделялось ровно столько азота, сколько его содержалось в съеденной пище. Бо́льшая часть азота обнаруживается в моче,

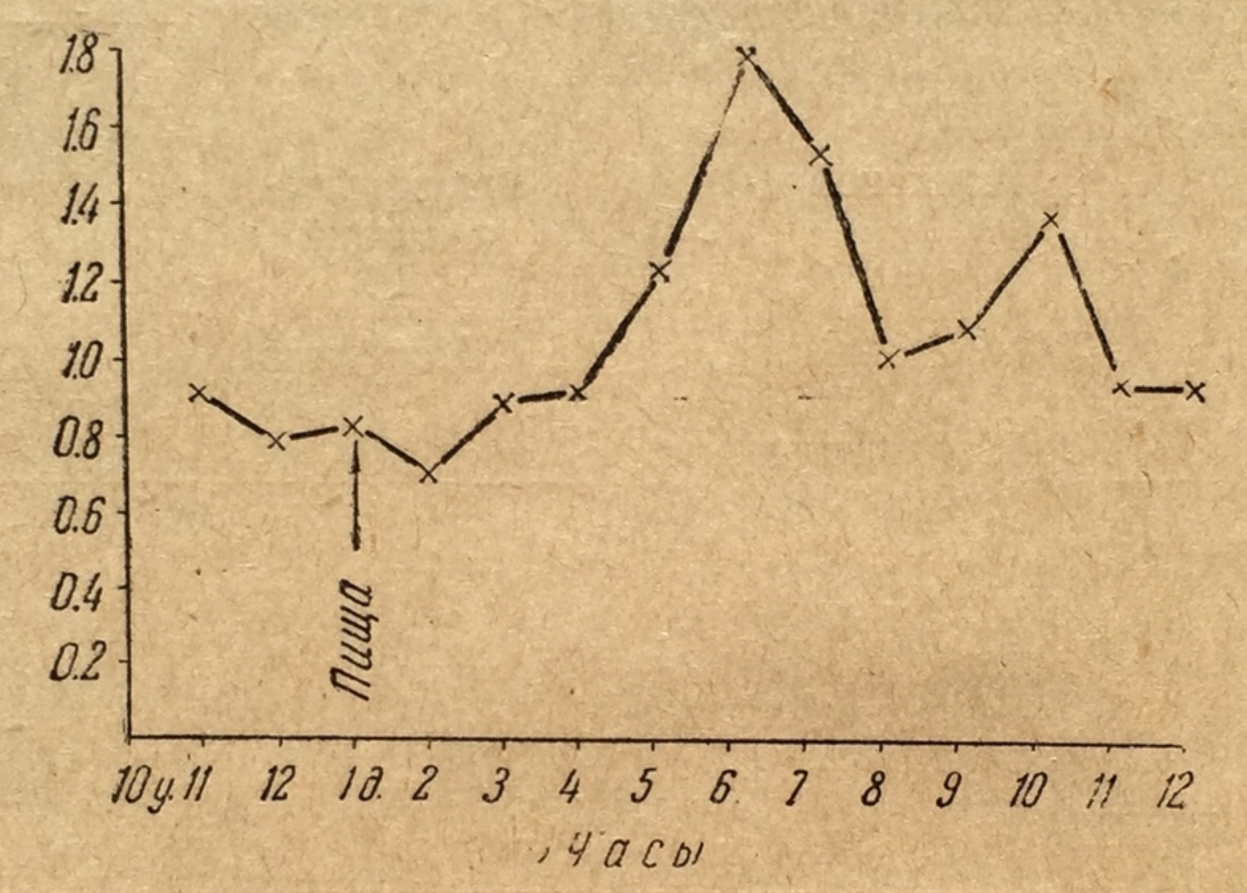


Рис. 3. Выделение азота с мочей в виде мочевины в ближайшие часы после однократного приема в пищу белка. Кривая показывает, с какой скоростью организм выводит излишек азота, не нужный для обновления тканей. (По Гопкинсу.)

и только незначительная часть—в экскрементах. Но с другой стороны, количество углерода и водорода, израсходованное и выделенное животным в моче, выдыхаемом воздухе и экскрементах в форме углекислого газа и воды, было ниже, чем количество этих элементов в принятой пище. Очевидно, значительная часть этих доставляющих энергию элементов была задержана в организме собаки в виде каких-то безазотистых веществ.

Позже то же самое по отношению к человеку было показано Гопкинсом, который проследил выделение мочевины с мочей в период, последующий за приемом белковой пищи. Результаты одного из таких экспериментов представлены на рис. 3, где показано почасовое выделение мочевины в моче человека после завтрака (состоявшего из 250 г говядины и 100 г хлеба), которому предшествовало восемнадцатичасовое голодание. Видно, что выделение мочевины быстро возрастает после приема пищи, затем, колеблясь, достигает некоторого максимума и спустя 10 часов после приема пищи спускается почти до первоначальной величины. Другими словами, если мы съели за завтраком пищу, содержащую много азота, то к вечеру мы дезаминируем все ее аминокислоты.

При обычных условиях, когда пища принимается через короткие промежутки времени, подъемы кривой выделения мочевины в значительной степени маскируются, так как азот последовательных приемов пищи частично выделяется одновременно. Но когда пища принимается в сроки, требуемые экспериментом, а не аппетитом или обычаем, легко показать, что у человека в течение 9—10 часов, следующих за приемом белковой пищи, количество выделенного в моче азота практически равно тому, которое содержится в пище. Это выделение происходит с одинаковой быстротой как в том случае, когда исследуемый субъект находится в состоянии покоя, так и в том случае, когда он выполняет какую-либо физическую работу; это очень важное обстоятельство, к которому мы еще вернемся, когда будем обсуждать энергетику мышечной работы (стр. 142), ибо оно показывает, что дезаминирование аминокислот протекает независимо от использования для энергетических целей их углерода и водорода. Другими словами, организм животного практически неспособен накоплять запасы азота, подобно тому, как он накопляет жиры и углеводы; азот белков, поглощенных в количестве, превышающем потребности тканей, бесполезно расточается.

Все изложенное естественно приводит к вопросу, каково же то минимальное количество азота в форме белков, которое должно входить в нормальную диэту, чтобы, с одной стороны, организм не испытывал недостатка в этом важном элементе для восстановления тканей, а с другой—чтобы расходуемый менее продуктивным путем (в качестве горючего материала) избыток белков свелся к возможному минимуму.

Этот вопрос имеет не только научное значение. Он приобрел огромное значение во время войны, когда пришлось разрабатывать различные схемы питания, направленные на целесообразное распределение уменьшившихся запасов азотсодержащих продуктов.

Мы можем установить, растрачиваются ли ткани какого-либо индивидуума непрерывно без восстановления или же они по мере распада восстанавливаются; для этого сравнивают количество азота пищи с количеством азота, выделяющегося с калом и мочей. Разница между количеством азота, поглощенного с пищей, и азота кала соответствует количеству азота, поступившего из пищеварительного тракта в организм. Если с мочей выделяется азота не больше, чем его поступило из кишечника, то, очевидно, что о потере азота тканями не может быть и речи; но если количество выделенного азота превышает количество поступившего из пищеварительного тракта, то, естественно, что источником некоторого количества азота являются ткани, и тогда общее количество живой субстанции в организме будет уменьшаться. Если индивидуум отдает с мочей азот в количестве, равном усвоенному, то говорят, что он находится в состоянии *азотистого равновесия*. Когда это имеет место, то мы знаем, что весь утраченный азот полностью замещается, и, поскольку приход и расход азота точно равны, общее его количество в организме остается постоянным.

Естественно, что, хотя азот, выделенный при этих обстоятельствах, количественно равен ранее усвоенному, однако атомы азота в этих двух случаях—не одни и те же. Часть выделенного азота происходит из тканей, и для восстановления этого эндогенного азота точно такое же количество азота задерживается за счет пищевых веществ; только остающаяся после этого часть пищевого азота переходит непосредственно в мочу. Конечно, растущий организм не может находиться в состоянии азотистого равновесия, так как он отдает азота меньше, чем получает, задерживая остаток в форме новообразованных тканей. Но зрелый организм с закончившимися процессами роста не может задержать азота больше, чем ему необходимо для поддержания уже существующих тканей. Он не может создавать новые тканевые белки просто за счет усиленного питания белковой пищей и не может, как мы видели ранее, накоплять азот в какой-либо иной форме. Из этого следует, что если человек находится в состоянии азотистого равновесия на диэте, содержащей некоторое определенное количество белков, то это состояние не изменится и тогда, когда количество протеинов увеличится, так как он выделит с мочей весь азот, который будет превышать минимум, необходимый для поддержания азотистого равновесия. Ясно также, что человек, который голодает или не получает белковой пищи, не может находиться в состоянии азотистого равновесия, так как в таком случае все время происходит распад тканей, и эндогенный азот выделяется с мочей, между тем как азот для замещения происшедших потерь не поступает извне в организм.

Для выяснения минимального суточного количества белков, необходимого нормальному человеку для поддержания азотистого равновесия, было проведено много исследований. С течением времени укреплялась тенденция ограничить этот минимум все меньшим и меньшим количеством. Жертвой одной из самых последних попыток определить белковый минимум был лабораторный служитель Института питания в Копенгагене. Его питали в течение нескольких месяцев пищей, состоявшей только из картофеля и маргарина, приправленного луком! Его энергетические потребности полностью покрывались за счет углеводов и жиров, получаемых с пищей. Оказалось, что для поддержания азотистого равновесия достаточно было того незначительного количества белков, которое содержалось в картофеле. В результате этих опытов было установлено, что приход и расход азота в день у этой жертвы науки не превышал 5 г, и тем не менее медицинское обследование после окончания экспериментов не могло обнаружить каких-либо расстройств в состоянии его здоровья. Белки по весу в среднем содержат азота около одной шестой и, следовательно, ежедневная порция белков в этом случае не превышала 30 г,—количество, значительно меньшее, нежели содержащееся в обычном среднем рационе.

Эти 5 г азота представляют, таким образом, то количество, которое должно быть доставлено в течение суток нормальному

здоровому человеку для компенсации потерь азота его тканями. Если он получит меньшее количество азота, то выделение азота будет все-таки продолжаться неослабевающим темпом, и организм начнет истощаться. Если он не получит никакой пищи—ни углеводов, ни жиров,—то распад тканей еще больше усилится, так как теперь белки будут расходоваться не только для восстановления тканей, но и как источник энергии, необходимой для поддержания таких основных функций организма, как деятельность сердца и дыхательные движения. Пока не истощились безазотистые энергетические ресурсы—гликоген печени и мышц и жир жировых депо,—интенсивность распада тканевых белков мала. Выделение

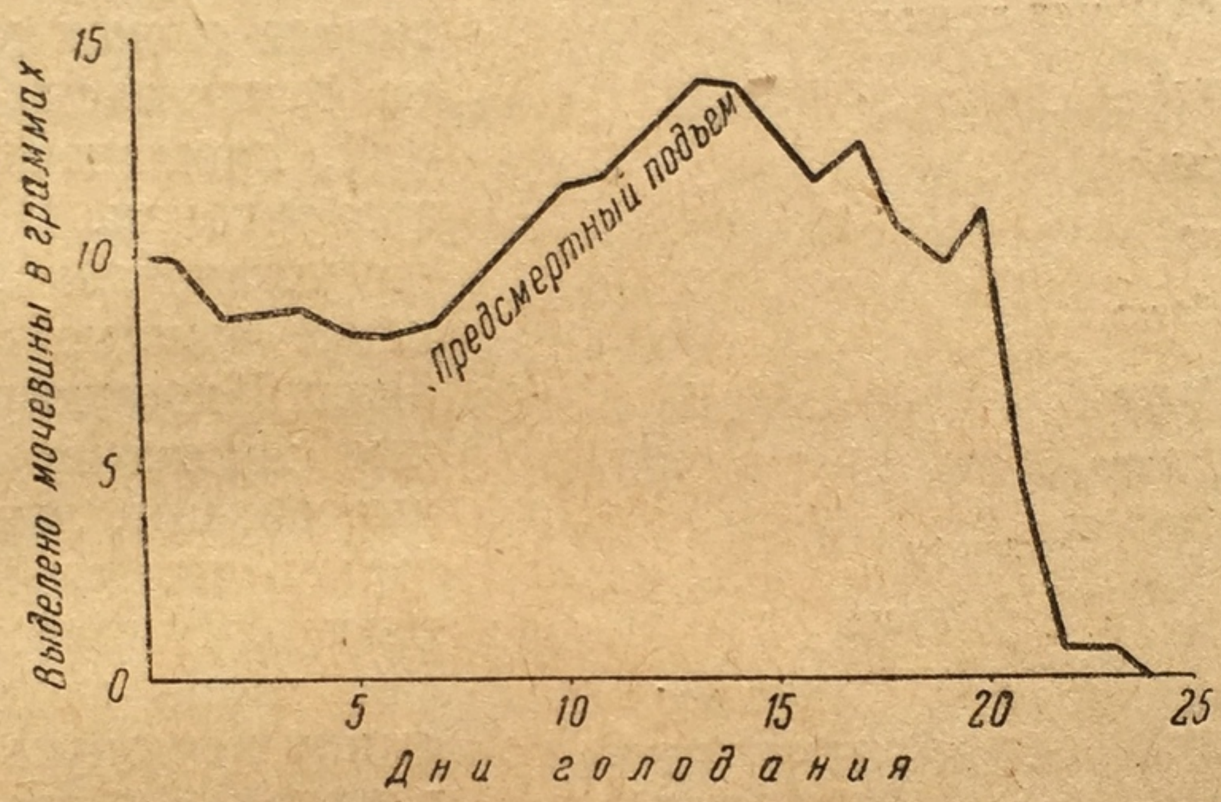


Рис. 4. Выделение азота мочевины у собаки, голодавшей в продолжение трех недель. Вначале, вследствие прекращения доставки белка, количество выделяемой мочевины падает до низкого, более или менее постоянного уровня. Когда истощается запас безазотистого топливного материала в организме, животное начинает жить за счет своих собственных тканевых белков. Это сказывается повышением количества выводимой мочевины, которое достигает некоторого максимума и снова падает, когда иссякает наличный запас белка, и животное близко к смерти. (Составлено по наблюдениям Фалька.)

азота с мочей в течение первых стадий голодания относительно невелико; у упитанных животных оно падает ниже нормального уровня, потому что экзогенные источники азота отсутствуют, а текущие энергетические потребности в первую очередь покрываются за счет запасов жиров и углеводов. Но по мере истощения резервов жиров и углеводов степень распада тканевых белков постепенно возрастает. Они гидролизуются и дезаминируются; образовавшиеся кетокислоты используются, в конце концов, как энергетический материал, а азот выделяется в виде мочевины с мочей. Как прямой результат усиленного использования тканевых белков для энергетических потребностей выделение азота также увеличивается. Усиленное выделение азота обычно предшествует смерти животного всего лишь на несколько дней. Организм содержит мало белков, которые он мог бы использовать как топливо. Когда эти белки сгорают, то животное лишается последнего источника энергии, необходимого для под-

держания жизненных процессов. Отсутствие дальнейших количеств белков, которые могут быть использованы как топливо, проявляется в этой последней стадии голодания быстрым падением выделения азота. Это явление иллюстрирует кривая (рис. 4), взятая из результатов старых опытов Фалька на собаке.

Не надо думать, что в период использования тканевых белков для энергетических целей различные органы тела расходуют свое вещество в равной степени. Оказалось, что относительная потеря веса какого-либо органа к моменту смерти животного от голода может очень сильно отличаться от изменений, происшедших в других органах. В общем было установлено, что наименее важные органы теряют бóльшую часть веса, чем жизненно необходимые органы, вещество которых тщательно сохраняется. Например, жировая ткань может совершенно исчезнуть и запасы гликогена в печени сгореть настолько, что вес органа уменьшится до половины нормального; даже произвольные мышцы могут потерять до трети их первоначального веса; в то же время сердце и мозг теряют только $^1/_{30}$ или менее своего более ценного для организма вещества.

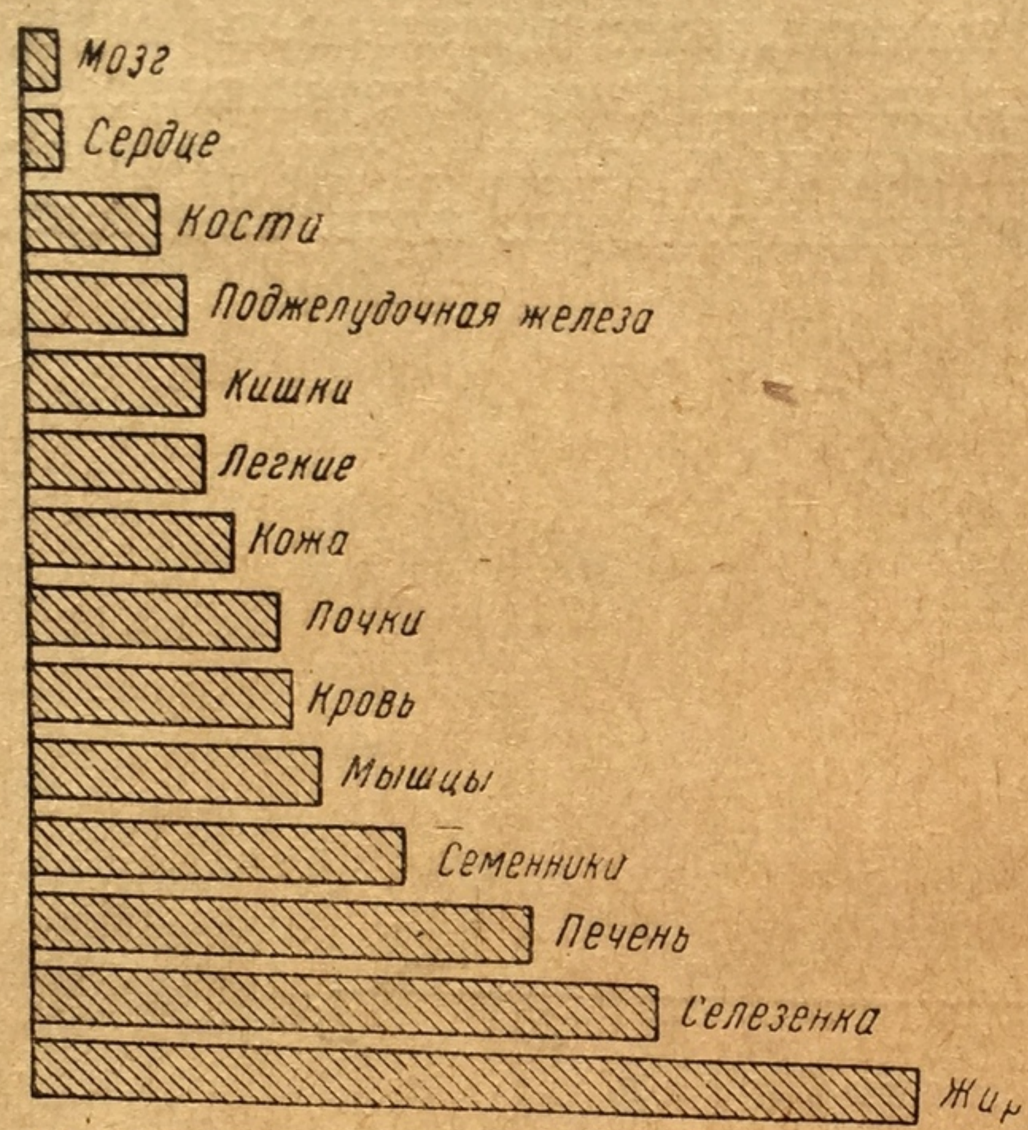


Рис. 5. Схематическое изображение сравнительной потери в весе различных органов при голодании в процентах исходного веса. Заслуживает внимания контраст между 97% потери резервного жира с потерей всего 3% веса мозгом; или между убылью в весе скелетных мышц, составляющей 31%, и потерей веса сердцем, не превышающей 3%. (Составлено по данным Фойта.)

Указанное явление при голодании интересно в том отношении, что оно обеспечивает до самого последнего момента деятельность наиболее важных органов—сердца и мозга. Относительные потери веса различных органов в течение голодания представлены в виде диаграммы на рис. 5.

До сих пор рассуждения велись так, как будто только общее количество белкового азота, полученного за сутки, определяет условия азотистого равновесия. Но если принять во внимание наши современные знания в области химии белков, то станет очевидно, что, кроме простого учета общего суточного поступления азота, мы должны считаться также и с формой этого азота—с природой тех аминокислот, которые входят в состав принятых в пищу белков. Аминокислоты, как это было подробно показано, играют важную роль не только в химии, но и в обмене белков. Аминоки-

слоты, вообще говоря, не превращаются друг в друга в организме. Если для построения ткани требуется какая-нибудь определенная аминокислота, то, как правило, она должна быть доставлена уже готовой вместе с пищей. Если тканевые белки теряют при своем расщеплении какую-либо аминокислоту, то организму должно быть доставлено такое количество белков, которое содержит эту аминокислоту в количестве, достаточном для восстановления его трат; лишь при этом условии можно поддерживать белковое равновесие. Так, например, если гистидин в той или другой мере утрачен тканями, то для достижения белкового равновесия пищевые белки должны содержать количество гистидина, достаточное для возмещения этих трат. Предположим, что пищевые белки содержат, кроме того, еще большое количество какой-либо другой аминокислоты, например, глицина, который не требуется тканям; в таком случае азот имеющегося избытка глицина неизбежно должен быть выделен, так как эта форма азота в данный момент организму не требуется. Отсюда следует, что для поддержания азотистого равновесия требуется белков, содержащих аминокислоты в тех же самых пропорциях, в которых они расходуются тканями организма, меньше, чем белков, где соотношение аминокислот иное. Таким образом, мы видим, что степень выделения азота в моче у человека, получающего как раз тот минимум белков, который необходим для восстановления его тканей (это составляло около 5 г в случае копенгагенского лабораторного служителя), не отражает абсолютно точно расхода азота тканями, так как азот мочи при этих условиях содержит азот не только тканевого происхождения, но также и азот, принадлежащий аминокислотам, которые не нашли применения в организме для целей пластических и потому были использованы просто как топливо. Этим объясняется, почему для восстановления тканей организма в общем недостаточно дать в пищевых белках ровно столько азота, сколько его выделяется при безбелковом питании. Необходимы значительно бо́льшие количества белков, так как обычно известная часть поступающих в организм аминокислот не находит применения в тканях для восстановления живого вещества.

Эти соображения объясняют расточительность организма в отношении белков, на которую уже обращалось внимание. Если бы мы не знали, что ткани нуждаются в специфических аминокислотах, то казалось бы странным, почему даже в тех случаях, когда организм получает азота меньше, чем ему необходимо для поддержания азотистого равновесия, в нем все-таки не задерживается все полученное количество азота, но часть его выделяется с мочей. Добавление к пище самого ничтожного количества белкового азота ведет к повышенному выделению азотистых продуктов даже у голодающего, истощенного животного. Если постепенно повышать количество азота в пище, то разница между количеством поступившего и выделенного азота становится все меньше и меньше, так что две кривые, иллюстрирующие приход и расход азота, постепенно сближаются и, наконец, при некотором уровне азота

в пище совпадают. Это и будет моментом достижения азотистого равновесия (рис. 6). Дальнейшее повышение пищевого азота сверх этого уровня ведет к соответственному увеличению его выделения и, следовательно, равновесие сохраняется.

Читатель, внимательно следивший за всеми предыдущими рассуждениями, вправе сделать вывод, что они содержат прямые доводы в пользу целесообразности так называемого «каннибализма» т. е. поедания себе подобных, ибо естественно, что именно белки животного данного вида содержат различные аминокислоты в тех соотношениях, которые необходимы для построения тканей другого животного этого же вида. Это и было действительно доказано, так как нашли, что собака способна поддерживать состояние белкового равновесия с наименьшими количествами белка в том случае, когда ее кормят собачьим же мясом, а не мясом какого-либо другого животного. Цивилизованный человек находит, однако, иные наиболее экономные пути для поддержания своего азотистого равновесия: он употребляет белковую пищу самого разнообразного происхождения и получает необходимую ему аминокислоту, если не из того, так из другого источника. При этом он не выбирает себе белки, руководствуясь данными науки, с таким расчетом, чтобы сохранить свой дневной белковый рацион в пределах 30 г, составляющих минимум, необходимый для восстановления его тканей. Большинство из нас просто в силу привычки съедает около 100 г белков в день, и с точки зрения диэтетики—науки о питании—против этого ничего нельзя возразить. Необходимо лишь, чтобы по крайней мере 30 г дневного белкового рациона состояло из высокоценных белков, т. е. белков животного происхождения (мясо, яйца, молоко). Животные белки содержат аминокислоты в соотношениях, более близких к тем, в которых мы нуждаемся, нежели более разнящиеся от них по своему составу белки растений. Относительная «биологическая ценность» различных белков, с точки зрения их использования для восстановления тканей человеческого организма, выражается тем количеством граммов человеческого белка, кото-

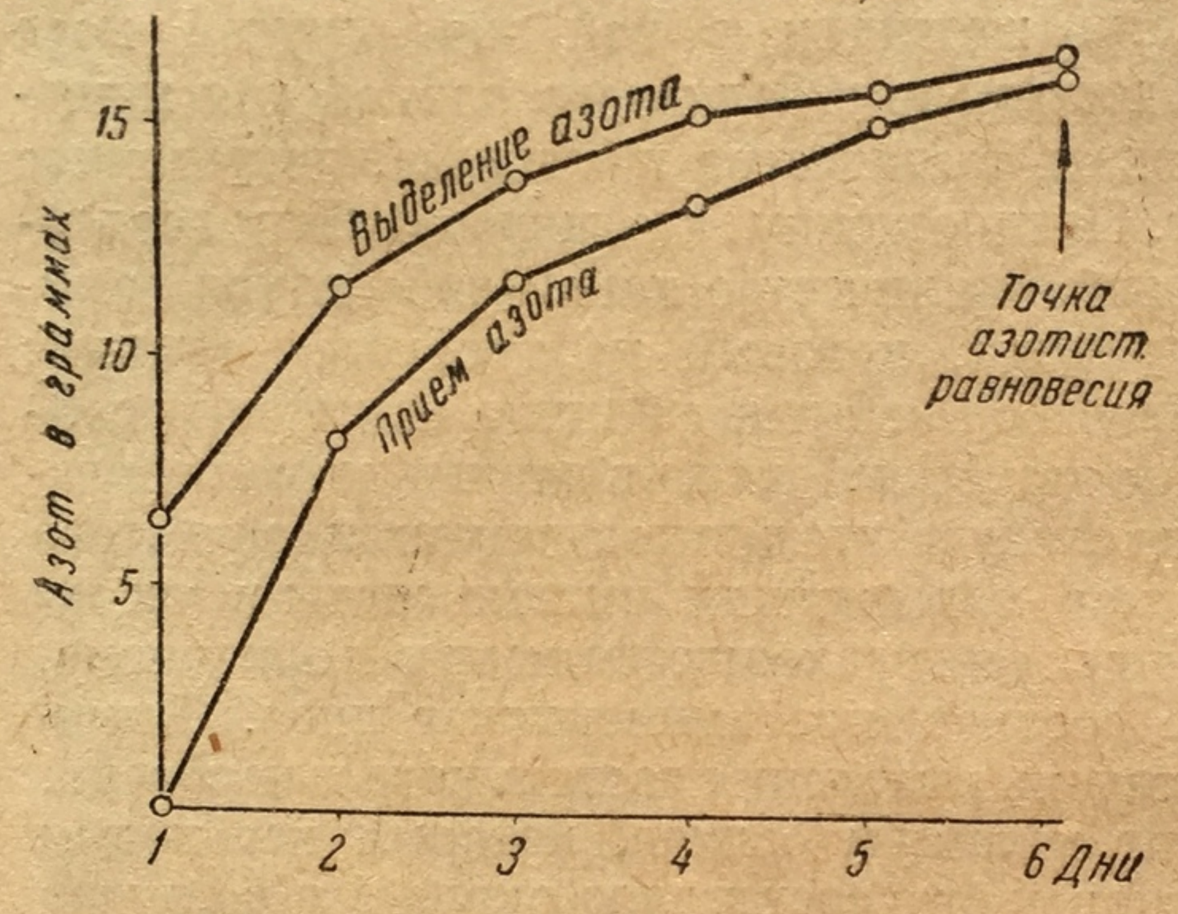
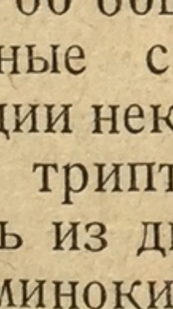


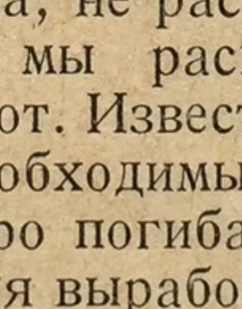
Рис. 6. Кривая, показывающая постепенное установление азотистого равновесия при увеличении количества белка, даваемого в пищу собаке. Следует отметить, что для достижения равновесия необходимо давать в пищу большее количество азота, чем то, которое выделяется во время белкового голодания, ибо, как правило, часть азота содержится в пище в виде аминокислот, не требуемых тканями. (По данным Фойта.)

рое может быть получено теоретически из 100 г интересующего нас белка. Очевидно, что, исходя из этого стандарта биологической ценности, нулевую ценность будет иметь белок, который совершенно не содержит тех или иных аминокислот, необходимых для восстановления тканей и не синтезируемых в организме из других веществ; сколько бы ни съедалось такого белка, все равно из продуктов его переваривания не может быть построен нормальный человеческий белок. Но если такой белок дать в смеси с другим белком, который сам по себе тоже может быть неполноценным, но содержит в изобилии аминокислоты, отсутствующие в первом, то биологическая ценность этой смеси может оказаться очень высокой. Интересны в этом отношении белки молока. Из белков молока казеин содержит мало цистина и имеет поэтому низкую биологическую ценность. Но другой белок молока, лактальбумин, содержит, как и все альбумины, относительно много цистина, так что естественная смесь этих двух белков доставляет нам все те аминокислоты, в которых мы нуждаемся. Другими словами, биологическая ценность смеси белков намного больше, чем ценность каждой составной части в отдельности. Подобным же образом биологическая ценность желатины равна нулю вследствие отсутствия в ее молекуле триптофана и тирозина, но она тем не менее может служить ценным источником прочих аминокислот, если к ней добавить другие белки, компенсирующие ее неполноценность. На основании изложенного мы приходим к выводу о целесообразности питания смешанной пищей, что вполне соответствует и нашим собственным привычкам.

Вопрос об общем использовании белков в организме включает в себя, как мы видим, и вопрос об использовании каждой отдельной аминокислоты. Поэтому было бы неправильно закончить эту главу об общем метаболизме азота, не рассмотрев те вполне определенные сведения, которыми мы располагаем относительно функции некоторых из аминокислот. Известно, например, что тирозин и триптофан совершенно необходимы для животных; если их изъять из диэты,—животное скоро погибает. Предполагается, что эти аминокислоты необходимы для выработки некоторых важных продуктов внутренней секреции, и нет никаких сомнений, что в отношении тирозина это абсолютно правильно. Не имея возможности входить в детали, мы должны сказать, что давно было известно, что адреналин, специфический продукт внутренней секреции мозгового вещества надпочечников, по своей химической структуре весьма близок к тирозину, как это видно из следующих формул:



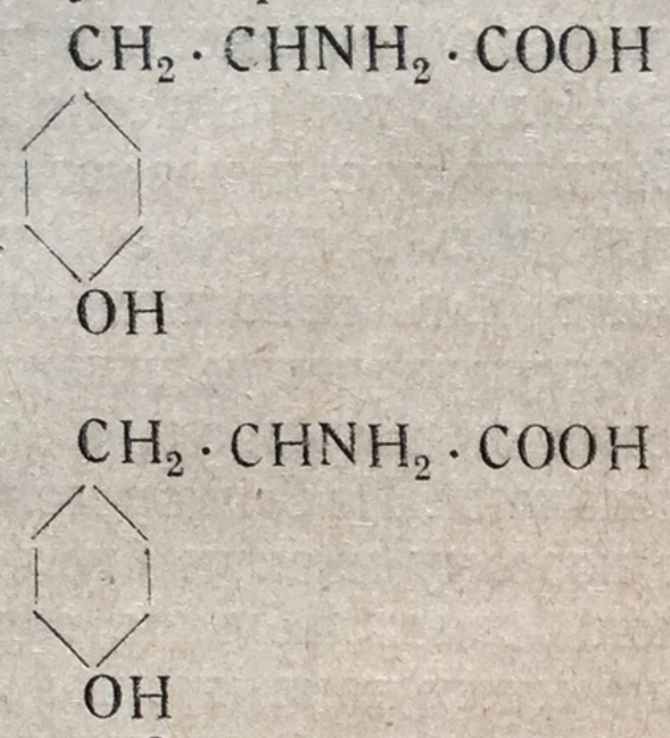
Тирозин



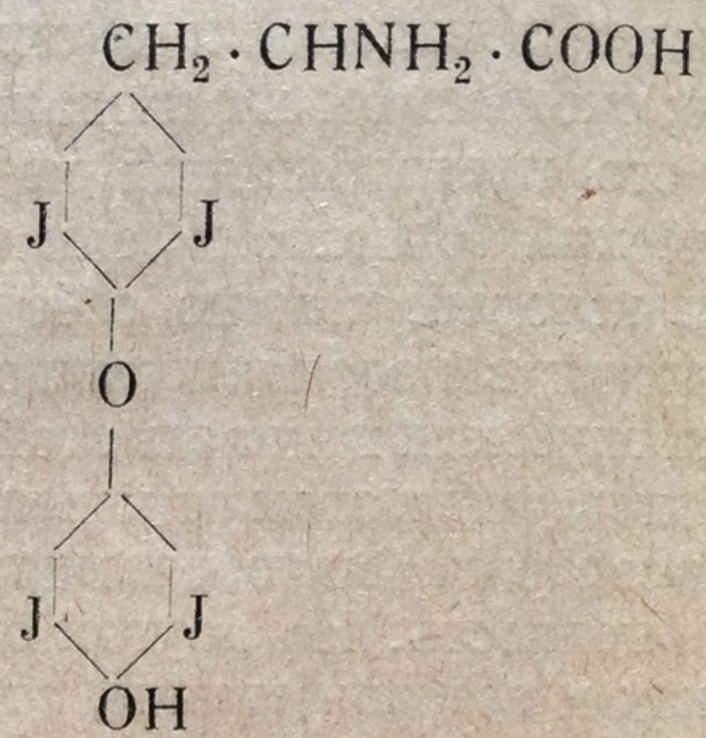
Адреналин

Далее было показано, что и действующее начало щитовидной железы, которому одно время приписывали химическое родство

с триптофаном, на самом деле тоже является дериватом тирозина; этот гормон, получивший название тироксина, можно рассматривать как соединение, образовавшееся из двух иодированных молекул тирозина:



2 молекулы тирозина



Тироксин

Исключительное значение тирозина для организма не требует никаких иных доказательств.

Тот факт, что тирозин и триптофан так необходимы для животного, показывает, что организм последнего не может синтезировать циклические структуры, имеющиеся в этих аминокислотах; они должны быть доставлены готовыми. С другой стороны, протоплазма растительных клеток обладает способностью создавать эти соединения из составляющих их элементов. Таким образом, весь тирозин и триптофан всего животного мира происходят из растительной пищи. В противоположность этому имеются такие простые аминокислоты, как глицин, которые легко могут быть синтезированы и в животном организме за счет других веществ, так что нет необходимости, чтобы они доставлялись готовыми в пищу. Между этими двумя группами обязательных и необязательных аминокислот мы имеем группу таких аминокислот, которые не являются необходимыми для нормального существования взрослого организма, но должны содержаться в пище молодого растущего животного. Примером этого класса аминокислот служит лизин, т. е. αε-диаминодериват капроновой кислоты, жирной кислоты, ближайшей к валериановой:

$$H_2N \cdot \overset{\varepsilon}{C}H_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot \overset{\alpha}{C}HNH_2 \cdot COOH.$$

Лизин

Известны белки, которые не содержат лизина; если ими кормить молодых крыс, то животные кажутся вполне здоровыми, но рост их прекращается; они вновь начинают расти лишь при переводе их на полноценную в отношении аминокислот диэту. Аминокислоты той группы, к которой принадлежит лизин, повидимому, не являются необходимыми для восстановления живого вещества, если оно уже полностью сформировано, но совершенно обязательны для первоначального его построения. Взрослый организм, очевидно, обладает способностью, которой нет у молодого,—способностью синтезировать лизин из других аминокислот. Это прекрасно иллю-

стрируется наблюдениями над самкой крысы, кормящей крысят. Самка крысы, получающая пищу, в которой отсутствует лизин, очевидно, располагает какими-то «химическими возможностями», обеспечивающими выработку полноценного в отношении содержащихся в нем аминокислот молока, так как детеныши развиваются нормально, пока они кормятся этим молоком. Но если их перевести на неполноценную диэту, то их рост приостанавливается, так как они не обладают способностью к химическому синтезу, способностью, которая имелась у выкармливавшей их матери.

ГЛАВА VII

БИОХИМИЯ ПУРИНОВ: НУКЛЕОПРОТЕИДЫ; МОЧЕВАЯ КИСЛОТА

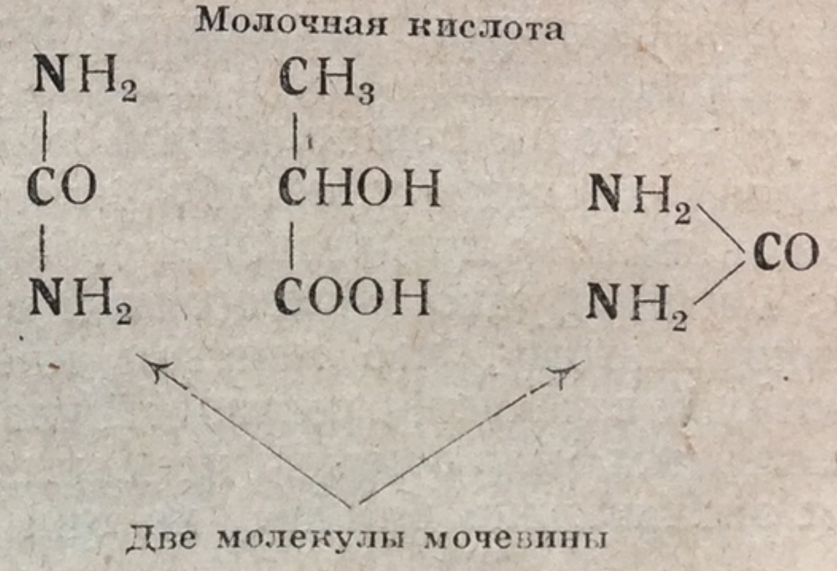
Прежде чем закончить изучение азотистых веществ, необходимо рассмотреть еще одну своеобразную группу белков. Мы имеем в виду нуклеопротеиды, являющиеся характерной составной частью ядер клеток. Нуклеопротеиды могут быть извлечены из тканей, содержащих большое количество ядер или ядерных субстанций (зобная железа, дрожжи), слабым щелочным раствором или просто водой (необходимые в последнем случае щелочные соли содержатся в самой извлекаемой ткани). Из раствора они осаждаются при легком подкислении (см. данные о растворимости белков в главе II). Как уже было упомянуто, нуклеопротеиды являются представителями сложных белков, молекула которых содержит, кроме белка, еще и небелковую группу. Не вдаваясь сейчас в детали, укажем, что небелковая группа молекулы нуклеопротеидов содержит, кроме других составных частей, вещества, известные под названием пуриновых оснований. Все они в структурном отношении тесно связаны с мочевой кислотой и в процессе обмена превращаются в последнюю. Мы можем сказать, что подобно тому как мочевина является характерным продуктом распада обычных белков, так мочевая кислота является характерным конечным продуктом обмена нуклеопротеидов. Читателю, уже знакомому с содержанием предыдущих глав, легко оценить теперь важность изучения образования и выделения из организма мочевой кислоты: количество мочевой кислоты в моче является, как правило, мерой общего распада нуклеопротеидов организма.

Сначала следует познакомиться с химией мочевой кислоты. Она впервые была получена Шеле еще в 1776 г. из камней мочевого пузыря, а также из мочи, подкисленной небольшим количеством крепкой соляной кислоты и оставленной затем на ночь. В чистом виде мочевая кислота представляет собой белый кристаллический порошок, очень трудно растворимый в водных жидкостях. Неудивительно поэтому, что мочевая кислота привлекла внимание исследователей в качестве составной части мочевых камней несколько раньше, чем была открыта мочевина: хотя мочевины в моче содержится значительно больше, но она гораздо лучше

растворима. В отличие от мочевины мочевая кислота нерастворима в алкоголе. Вследствие плохой растворимости мочевая кислота легко выделяется из крови и откладывается в суставах и тканях при некоторых артритах и подагре. Мочевая кислота количественно осаждается в виде аммониевой соли при подщелочении ее раствора аммиаком и прибавлении избытка хлористого аммония; свободная мочевая кислота легко освобождается из полученной соли (урата аммония) обработкой соляной кислотой. Этот способ осаждения используется при получении препаратов мочевой кислоты из мочи, а в свое время находил применение в старых методах ее количественного определения, пока не были предложены современные колориметрические методы, при которых мочевая кислота определяется непосредственно в моче без предшествующего выделения. Так как мочевая кислота обладает сильными восстановительными свойствами, то ее можно после осаждения определить титрованием перманганатом. Редуцирующие свойства мочевой кислоты видны далее из того, что она выделяет металлическое серебро из серебряных солей (реакция Шиффа) и восстанавливает фелингов раствор (стр. 86)—последнее нужно иметь в виду при исследовании мочи или другой жидкости на сахар. Самая характерная качественная реакция на мочевую кислоту—это так называемая м у р е к с и д н а я проба. Она состоит в том, что небольшое количество исследуемого материала слегка увлажняется крепкой азотной кислотой и выпаривается досуха на крышечке фарфорового тигля. Если в исследуемом материале имеется мочевая кислота, то получается плотный красный остаток; при растворении его в одной или двух каплях аммиака возникает красивое пурпурное окрашивание. Окраска раствора (но не химическая структура образовавшегося вещества) сходна с цветом тирского пурпура, который в древности получали из морского моллюска мурекс, откуда и возникло название мурексидной реакции.

Структурная формула мочевой кислоты довольно сложна и на первый взгляд может показаться трудной для запоминания. Существенное облегчение при этом может принести знакомство с некоторыми методами чисто химического синтеза мочевой кислоты. Наименее сложно образование мочевой кислоты из двух молекул мочевины и одной молекулы какой-нибудь кислоты, содержащей цепь из трех атомов углерода. Мы возьмем для примера молочную кислоту и две молекулы мочевины:

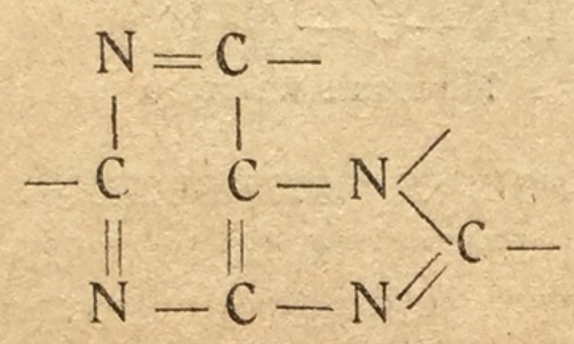
Молочная кислота



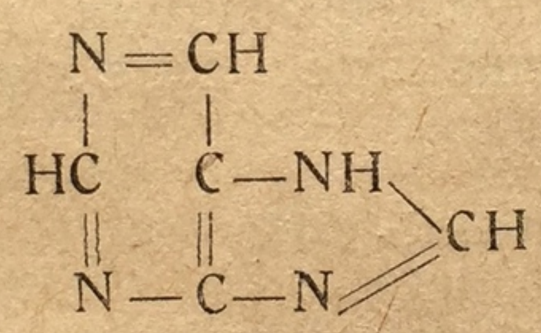
Две молекулы мочевины

Атомы, представляющие для нас интерес, напечатаны жирным шрифтом. Можно, конечно, возразить, что молекулы расположены нами произвольно, однако посредством соответствующих химических приемов можно, действительно, заставить эти молекулы вступить в соединение нужным образом. При этом образуется продукт, содержащий то же двойное кольцо из атомов углерода и азота, которое характерно для молекулы мочевой кислоты. Сама мочевая кислота легко может быть затем получена из этого промежуточного продукта.

Таким образом, нетрудно запомнить, что основные атомы молекулы мочевой кислоты расположены в виде следующего двойного кольца

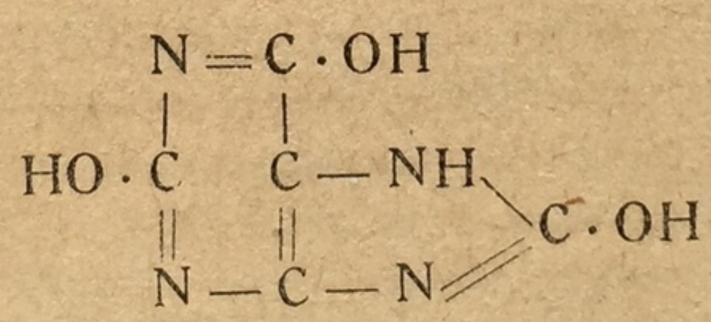


носящего название ядра пурина. Если добавить водородные атомы, необходимые для насыщения валентностей, то получается формула вещества, состоящего из углерода, азота и водорода и обладающего свойствами основания; это вещество и есть пурин, из которого можно получить все пуриновые дериваты.



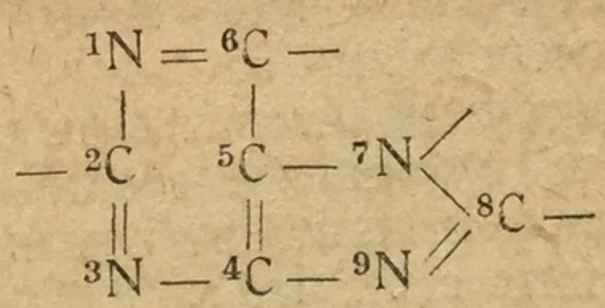
Пурин

Мочевая кислота представляет собой триоксипроизводное пуринового ядра, в котором все гидроксильные группы соединены с атомами углерода:

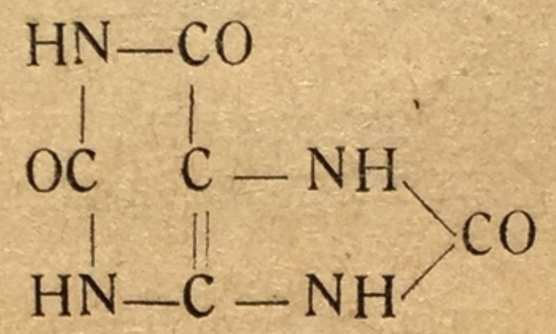


Мочевая кислота

Для удобства атомы пуринового ядра принято обозначать номерами, расположенными в следующем порядке:



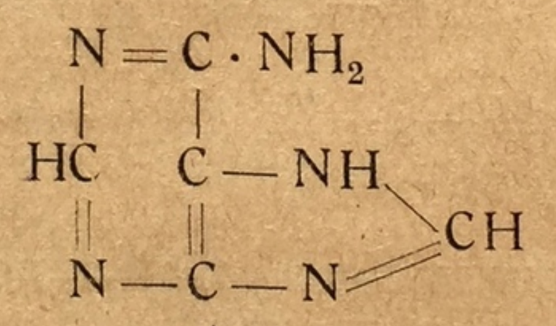
Эта нумерация условна, но она необходима для того, чтобы можно было указать положение той или иной замещающей группы в молекуле пурина. Пользуясь этой номенклатурой, мы должны обозначить мочевую кислоту как 2, 6, 8-триоксипурин. На практике мы нередко встречаем несколько иное начертание формулы мочевой кислоты, более наглядно передающее взаимоотношение ее с двумя молекулами мочевины и трехчленной углеродной цепью:



Мочевая кислота

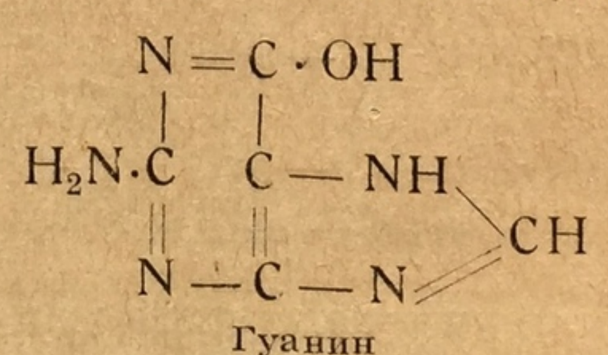
Но это не изменяет наших заключений. Химически считают, что в молекуле мочевой кислоты водородные атомы гидроксильных групп при известных условиях переходят от соответствующих им кислородных атомов к соседним атомам азота. Таким образом, мочевая кислота принимает то одну, то другую структуру, в зависимости от внешних условий. Такое поведение водородные атомы обнаруживают и в некоторых других соединениях; называется это весьма распространенное явление таутомерией.

Из прочих производных пурина для нас важны пуриновые основания, являющиеся аминопроизводными пуринового кольца. Из них наибольшее значение имеет аденин, представляющий собой 6-аминопурин:



Аденин

и гуанин, содержащий, кроме аминогруппы, еще гидроксильную группу и представляющий собой 2-амино-6-оксипурин:



Гуанин

Важно отметить, что группы $—NH_2$ и —OH в этих веществах соединены с теми же углеродными атомами, которые в молекуле мочевой кислоты являются носителями гидроксильных групп. Аденин и гуанин—это те пуриновые соединения, которые чаще всего встречаются в составе небелковой группы нуклеопротеидов. Чрезвычайно важно уяснить себе, что мочевая кислота мочи полу-

чается именно из этих веществ, претерпевающих в процессе обмена ряд описываемых ниже превращений. Алкалоид кофеин также является пуриновым производным—триметильным дериватом ксантина, с которым мы встретимся позже. Он не играет существенной роли в пуриновом обмене, но заслуживает упоминания, так как содержится в ряде напитков, например, в кофе, в чае, и, кроме того, применяется при физиологических опытах и в медицинской практике как лекарственное вещество.

Рассмотрев взаимоотношения главных интересующих нас веществ, мы располагаем основными фактами, необходимыми для понимания структуры нуклеопротеидов, которые являются важнейшими компонентами ядерного вещества клетки. Если принять во внимание, что ядро во многих отношениях является наиболее сложной частью клетки, то не удивительно, что его структурные элементы принадлежат к числу сложнейших из тех веществ, с которыми приходится иметь дело биохимику.

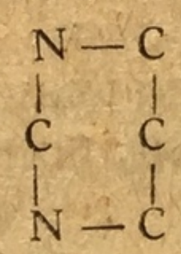
Нуклеопротеиды относятся, как было упомянуто выше, к сложным белкам—«протеидам», т. е. их молекула состоит из белковой части и из небелковой группы. В нуклеопротеидах молекулы белка связаны с небелковой группой, называемой нуклеиновой кислотой. Это доказано путем переваривания нуклеопротеидов ферментами пищеварительного тракта. При действии пепсина часть белка нуклеопротеида отщепляется и переваривается. Непереваренный остаток нуклеопротеида носит название нуклеина. Нуклеин еще содержит белок, который в дальнейшем полностью отщепляется под действием трипсина, после чего только и освобождается нуклеиновая кислота:

нуклеопротеид
↓ (пепсин)
белок + нуклеин
↓ (трипсин)
белок + нуклеиновая кислота.

Легко запомнить эти превращения, так как последовательность действия ферментов здесь совпадает с ходом переваривания нуклеопротеидов в пищеварительном канале. Чтобы приготовить нуклеиновую кислоту, на практике удобнее прибегать не к ферментам, а к нагреванию нуклеопротеидов с достаточно крепким раствором едкого натра. Если нагревать нуклеиновую кислоту с разведенной минеральной кислотой, то она распадается на фосфорную кислоту, углевод и азотистые основания—пуриновые и пиримидиновые[1].

---

[1] В основе пиримидиновых оснований лежит ядро со следующим расположением атомов:



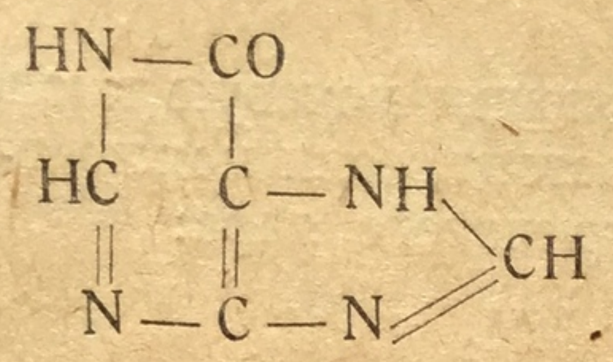
Более осторожное расщепление показывает, что нуклеиновые кислоты состоят из особых образований, называемых нуклеотидами. Каждый из нуклеотидов состоит в свою очередь из одной молекулы фосфорной кислоты, сахара и пуринового основания:

Фосфорная кислота — сахар — пуриновое основание.

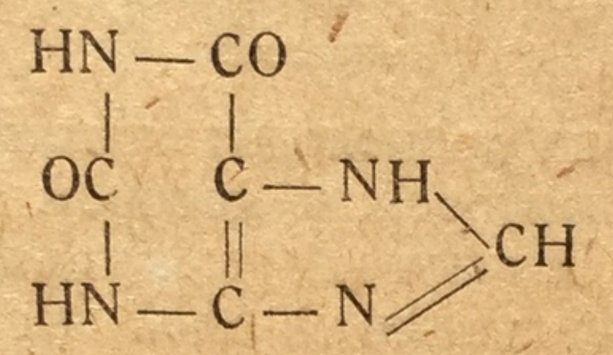
Сахар в молекуле нуклеотида занимает центральное место, поскольку он, с одной стороны, соединяется с фосфорной кислотой, а с другой стороны—с пуриновым основанием. Соединение с фосфорной кислотой осуществляется эфирной связью, наподобие связей в других эфирах фосфорной кислоты и сахаров, например, в гексозофосфатах (ср. гл. X, стр. 106). В образовании связи с пуриновым основанием участвует редуцирующая группа сахара, поскольку нуклеиновые кислоты совершенно лишены восстановительных свойств.

Различные нуклеотиды содержат неодинаковые сахара и пуриновые основания, благодаря чему эти основные структурные единицы нуклеиновой кислоты отличаются большим разнообразием. Впрочем, установлено, что нуклеиновые кислоты растительного происхождения, независимо от вида исходного сырья, содержат одни и те же виды нуклеотидов. То же обнаружено и в отношении животных нуклеиновых кислот. Мы имеем, таким образом, два типа нуклеиновых кислот—растительную и животную, или, как их чаще называют соответственно источнику происхождения, — дрожжевую нуклеиновую кислоту и зобную нуклеиновую кислоту. Тем не менее существует много различных нуклеопротеидов, так как остаются бесконечные возможности вариаций структуры белковой группы, с которой соединяется в нуклеопротеидах нуклеиновая кислота.

Пепсин и трипсин не расщепляют нуклеиновой кислоты. Только в тонких кишках под влиянием имеющихся там ферментов нуклеиновая кислота распадается на нуклеотиды, а последние—на фосфорную кислоту, сахар и пуриновые основания. Фосфорная кислота в дальнейшем выделяется в виде неорганических фосфатов с мочей; сахар, будучи перенесен в печень, может превратиться в гликоген; судьба же пуриновых оснований будет рассмотрена здесь более подробно. Пуриновые основания поступают в ток крови и переносятся в печень и другие ткани. Читатель, уже знакомый с метаболизмом белков, не удивится, узнав, что первым процессом, которому подвергаются эти аминопроизводные, является дезаминирование: разложение пуриновых оснований начинается с отщепления от них аминогруппы. Выше было указано, что из аминокислот в результате дезаминирования образуются кетокислоты и аммиак. Точно так же в тканях образуются кетопроизводные и при дезаминировании аденина и гуанина. Место аминогруппы в ядре возникающих при этом веществ занимает группа CO. Так, вещество, получающееся из аденина, имеет формулу:



и носит название гипоксантина, так как оно является более низкой степенью окисления, чем вещество, образующееся из гуанина, с формулой:

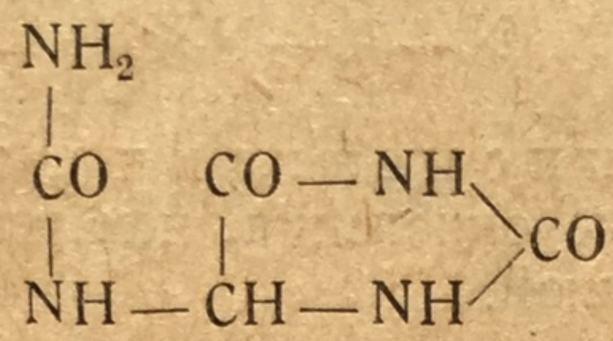


и называемое ксантином (от греческого ksantos—желтый: оно дает желтый остаток при выпаривании с азотной кислотой). Превращение диоксипроизводного (ксантина) и монооксипроизводного (гипоксантина) в триоксипроизводное (мочевую кислоту) связано с процессом окисления, протекающим у человека, повидимому, только в печени. Тем же самым изменениям, какие были описаны, когда говорилось о протеидах пищи, подвергаются в процессе внутриклеточного метаболизма и нуклеопротеиды, входящие в состав тканей организма. При этом освобождаются нуклеиновые кислоты, распадающиеся на нуклеотиды. Последние в свою очередь расщепляются, давая фосфорную кислоту, углеводы и пуриновые основания. Эти эндогенные пуриновые основания дезаминируются, затем происходит окисление образующихся ксантина и гипоксантина в мочевую кислоту. Таким образом, организм выделяет не только мочевую кислоту, возникающую из нуклеопротеидов пищи, но и ту, которая получается при распаде собственных тканевых нуклеопротеидов. Иными словами, из организма выделяется как экзогенная, так и эндогенная мочевая кислота.

До сих пор ничего не говорилось об органах, в которых происходят превращения пуринов, но это объясняется тем, что органы эти чрезвычайно сильно меняются в зависимости от вида животных. Рассмотрение всех относящихся сюда фактов завело бы нас слишком далеко, но некоторые случаи все же представляют интерес. Например, было обнаружено, что ни в одном человеческом органе не происходит превращения свободного аденина, так что последний в небольших количествах встречается в моче. С другой стороны, например, свинья, повидимому, неспособна перерабатывать гуанин, так что последний может кристаллизоваться в тканях свиньи и давать своеобразную «гуаниновую» подагру. В отличие от этого в печени быка содержатся все ферменты, катализирующие пуриновый обмен.

У большинства млекопитающих образующаяся мочевая кислота подвергается дальнейшим превращениям, так как в ряде органов, в особенности же в печени, в дополнение к описанным содержатся

еще ферменты, окисляющие мочевую кислоту в аллантоин, молекула которого состоит, если можно так выразиться, из разорванных остатков пуринового ядра:



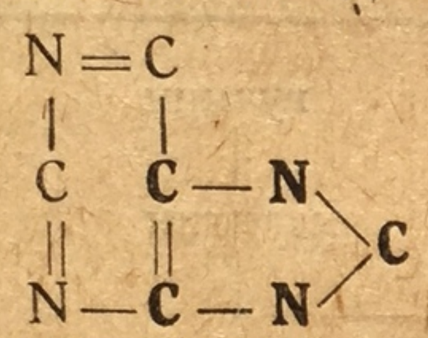
аллантоин

Название аллантоина происходит от наименования эмбрионального пузыря, или аллантоиса, в котором впервые было обнаружено это вещество. Аллантоин как продукт экскреции имеет большие преимущества перед мочевой кислотой вследствие своей значительной растворимости. Грамм аллантоина растворяется в 160 мл воды, между тем как грамм мочевой кислоты требует для своего растворения 40 000 мл воды. В организме человека, его ближайших родичей—человекоподобных обезьян и (как это ни странно) у далматских собак отсутствует расщепляющий мочевую кислоту фермент—уриказа, и поэтому у них в качестве конечного продукта обмена нуклеопротеидов выделяется мочевая кислота. В среднем количество мочевой кислоты у человека при обычной диэте достигает 0,75 г в день. Интересно отметить, что мочевая кислота в больших количествах содержится в густой моче птиц и рептилий и добывается поэтому для коммерческих целей из гуано (экскременты птиц) и из мочи змей в зоологических садах. Предполагалось, что мочевая кислота синтезируется птицами и рептилиями из молочной кислоты и мочевины, образующейся в процессе нормального обмена белков. Если у гуся исключить печень из системы кровообращения, то вместо мочевой кислоты с мочей выделяется мочевина и молочнокислый аммоний. Но это еще не является доказательством того, что и у нормальных птиц мочевая кислота образуется из мочевины и молочной кислоты. Современные эксперименты показали, что образование мочевой кислоты срезами куриной печени стимулируется прибавлением аммиака, а также молочной кислоты; мочевина не оказывает никакого влияния. Повидимому, аммиак и молочная кислота и являются исходным материалом для синтеза мочевой кислоты, а мочевина не имеет в этом отношении никакого значения.

Существует много доказательств, говорящих в пользу возможности синтеза пуринового кольца у человека и других млекопитающих, но не из молочнокислого аммония, а из аминокислот. Классическим примером является следующий опыт: молодая женщина в течение 50 дней питалась пищей, бедной пуринами; за это время она не только выделила на 15 г мочевой кислоты больше, чем ею было принято с пищей, но и прибавилась на 4 кг в весе. Таким образом, в течение эксперимента она синтезировала огромное количество пуриновых соединений. Некоторые указания относительно того, что именно служит исходным материалом для

этого синтеза, были получены путем опыта, заключавшегося в кормлении крыс пищей, не содержащей аргинина и гистидина (рис. 7). Содержание пуринов в моче крыс во время опыта падало и вновь возвращалось к норме при переходе на полноценную, содержащую аргинин и гистидин диэту.

Исключение из пищи других аминокислот не сопровождалось такими последствиями. Нетрудно уяснить себе, каким образом аргинин и гистидин могут играть в организме роль предшественников пуринового ядра. Припомним, что гистидин содержит кольцо имидазола и что в одной из частей пуринового ядра мы имеем то же сочетание атомов углерода и азота, как и в кольце имидазола:



Аргинин — аминокислота, содержащая гуанидин; он является α-амино - δ - гуанидиновым производным валериановой кислоты:

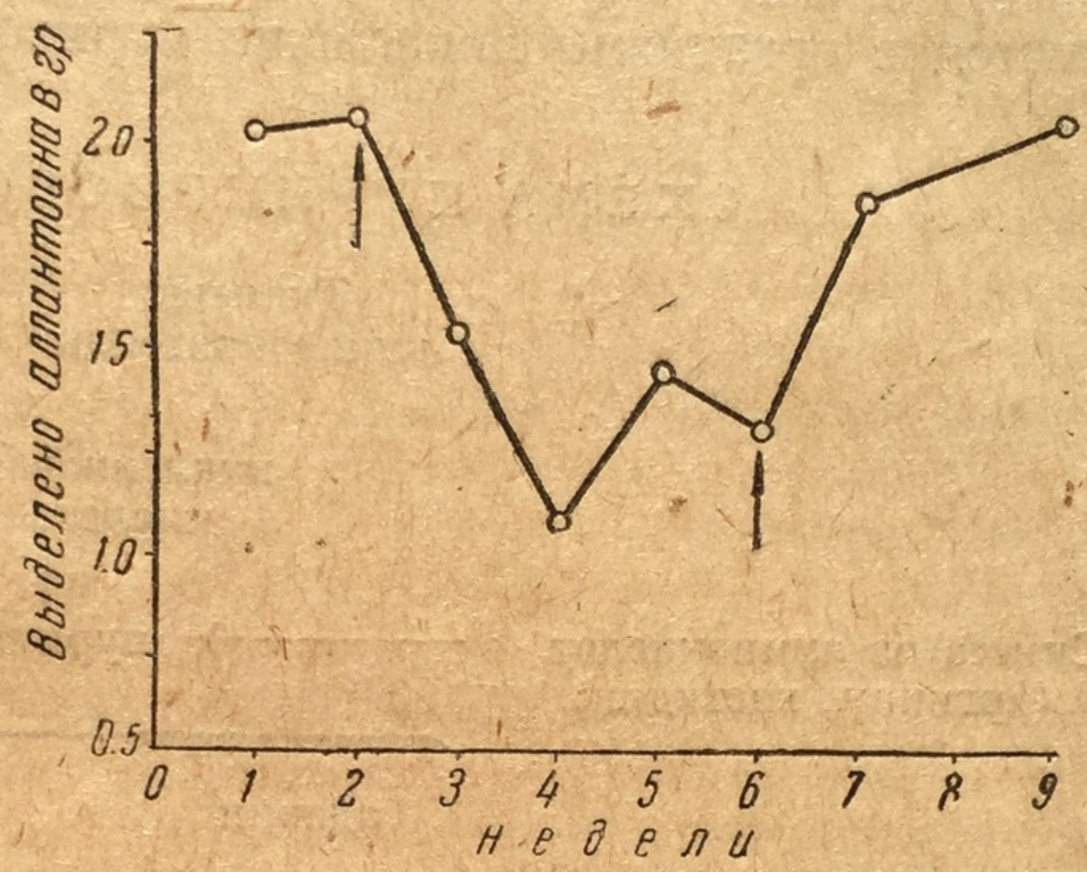
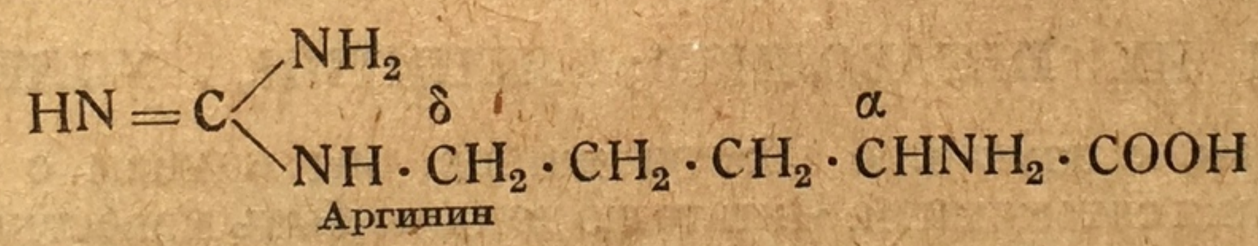


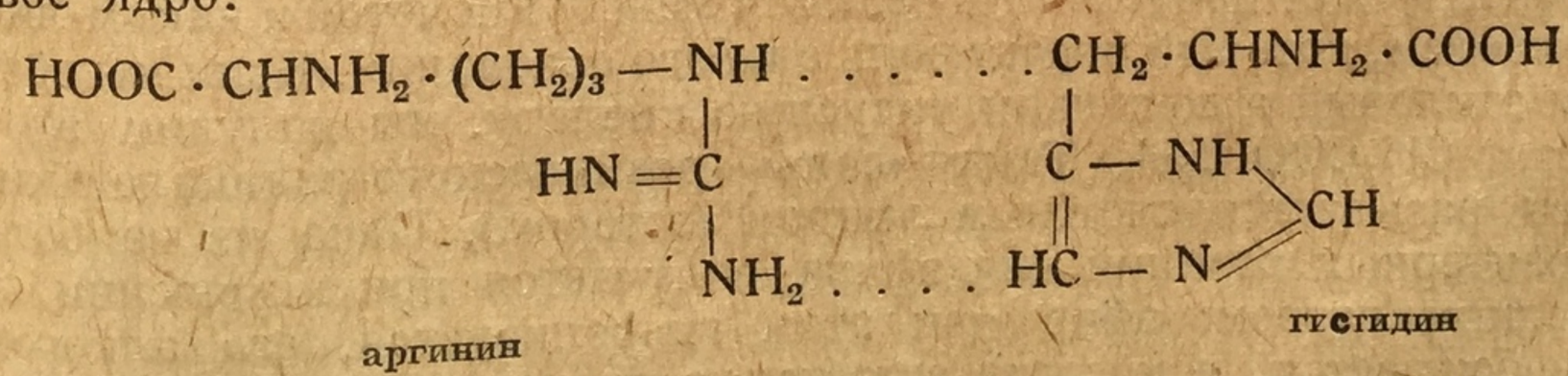
Рис. 7. Понижение количества выделяемого аллантоина (продукта распада пуринов) при устранении аргинина и гистидина из пищевого рациона крысы. Количество выводимого аллантоина возвращается к норме, после того как к пище снова прибавляются недостающие аминокислоты. (По экспериментальным данным Гопкинса.)

Первая стрелка—выключение аргинина и гистидина из пищи. Вторая стрелка — возобновление дачи аргинина и гистидина.



Аргинин

Переписав эти формулы в другом расположении, легко представить себе, как из аргинина и гистидина может получиться пуриновое ядро:



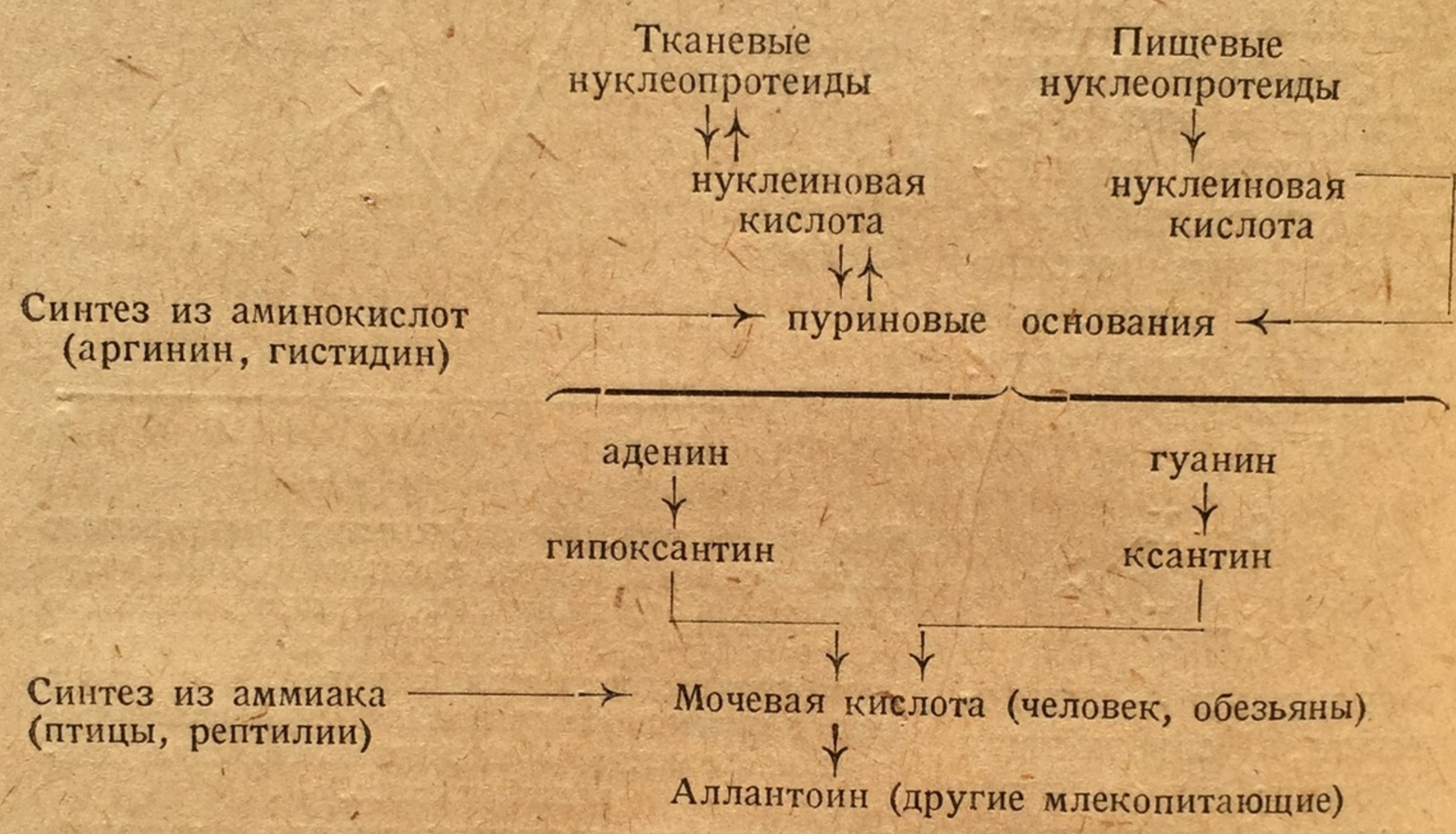
аргинин гистидин

Укажем на то, что синтез пуринового ядра из непуриновых веществ можно наблюдать во время высиживания куриного яйца. По мере деления клеточных ядер образуется все больше и больше

нуклеопротеидов, и вполне развившийся цыпленок содержит гораздо большее количество пуриновых производных, чем исходное яйцо, несмотря на то, что никакой пищи извне не доставлялось.

Приводимая ниже схема представляет сводку изложенных нами данных о тех химических превращениях, которым подвергаются в организме важнейшие пуриновые производные.

СХЕМА ПУРИНОВОГО ОБМЕНА



ГЛАВА VIII

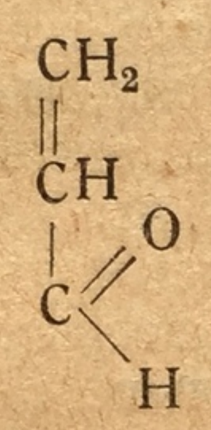
ЖИРЫ И ИХ МЕТАБОЛИЗМ; ЛЕЦИТИН, ХОЛЕСТЕРИН

Приступая к изучению обмена жиров, мы начнем с краткого ознакомления с их химией. Читателю должно быть известно из органической химии, что если мы возьмем какую-нибудь кислоту, например, уксусную CH_3COOH, и нейтрализуем ее углекислым натрием, то мы получим натриевую соль CH_3COONa. Сходным образом может происходить реакция между кислотой и каким-либо алкоголем, который играет роль слабого основания. Если мы возьмем этиловый алкоголь и уксусную кислоту, мы получим этилацетат $CH_3COO.C_2H_5$. Такая «соль» органического радикала и кислоты называется сложным эфиром (эстером). Одна из наиболее характерных реакций для эфира получается при кипячении его с едким натром; эфир при этом гидролизуется, его алкоголь освобождается, а кислота остается в виде натриевой соли. Взяв снова в качестве примера этилацетат, мы можем представить этот процесс следующим образом:

$$CH_3COO \cdot C_2H_5 + NaOH \rightarrow C_2H_5OH + CH_3COONa.$$

Жиры являются не чем иным, как сложными эфирами, образованными соединением алкоголя и кислоты. Алкоголь, встречающийся в жирах, не простой этиловый спирт, но более сложный, а именно глицерин, содержащий три OH-группы.

Глицерин представляет собой бесцветную густую, сладкого вкуса, смешивающуюся с водой жидкость, которая кристаллизуется при длительном охлаждении. Его систематическое название будет глицерол (в систематической номенклатуре органической химии названия оксипроизводных оканчиваются на «ол», а окончание «ин» сохранено для таких азотистых оснований, как амины). Глицерин легко может быть обнаружен, так как при нагревании с дегидратирующими агентами, например, с кислым сернокислым калием, он теряет две молекулы воды и образует альдегид акролеин, который имеет весьма характерный резкий удушливый запах (от латинского слова acris—острый):



Акролеин

Наиболее распространенные кислоты, эфиры которых с глицерином образуют обычные жиры, следующие:

1. Стеариновая кислота (от греческого слова stear—жир, сало) является типичным представителем жирного ряда, имеет длинную неразветвленную цепь, образованную восемнадцатью углеродными атомами, и может быть сокращенно написана так:

$$CH_3 \cdot (CH_2)_{16} \cdot COOH.$$

Стеариновая кислота—восковидное белое твердое вещество, кристаллизующееся из органических растворителей.

2. Пальмитиновая кислота, которая является ближайшим членом ряда в нисходящем от стеариновой кислоты направлении, имеет углеродную цепь на два атома короче:

$$CH_3 \cdot (CH_2)_{14} \cdot COOH.$$

Она имеется в изобилии в пальмовом масле и по своим основным свойствам сходна со стеариновой кислотой.

3. Олеиновая кислота представляет собой жидкость. Ее молекула содержит то же число углеродных атомов, как и стеариновая кислота, но водородных атомов на два меньше, и она является поэтому ненасыщенной. Так как озон расщепляет молекулу олеиновой кислоты на две симметричные части, каждая из которых содержит по девяти углеродных атомов, то очевидно, что двой-

ная связь находится в молекуле олеиновой кислоты как раз посредине цепи:

$$CH_3(CH_2)_7 \cdot CH = CH \cdot (CH_2)_7 COOH.$$

Кислотные свойства этих веществ выражены очень слабо; все они проявляются, например, в том, что эти жирные кислоты чрезвычайно легко растворяются в водных растворах едких щелочей, образуя соли; этим пользуются для того, чтобы таким образом отделить их от жиров.

Так как глицериновая молекула содержит три гидроксильные группы, то она может соединиться с тремя молекулами каждой из указанных выше кислот. Эфир, образованный глицерином и тремя молекулами стеариновой кислоты, называется тристеарином; эфир с тремя молекулами пальмитиновой кислоты— трипальмитином и, наконец, эфир, содержащий три молекулы олеиновой кислоты, носит название триолеина. Натуральные жиры обычно являются смесью этих трех простых глицеридов в различных пропорциях, но они часто содержат еще и глицериды с различными жирными кислотами в одной и той же молекуле. В общем можно сказать, что жиры, содержащие больше эфиров стеариновой и пальмитиновой кислоты, имеют более высокую точку плавления, чем те, в которых преобладает олеиновая кислота; следовательно, чем больше содержание в жире олеиновой кислоты, тем он легче плавится. Оливковое масло, в котором содержится много олеиновой кислоты, представляет собой жидкий жир; свиное сало, в котором олеиновой кислоты уже меньше, имеет полужидкую консистенцию, в то время как бараний жир, где олеиновой кислоты совсем мало, при обычных температурах является плотным телом. В сливочном масле, которое представляет собой просто жир молока, кроме указанных выше, содержатся еще глицериды низших кислот, таких, как простая четырехуглеродная масляная кислота:

$$CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH.$$

В нормальных условиях резервный жир каждого животного является строго определенной смесью глицеридов, характерной для данного вида; однако в тех случаях, когда в пище содержится много чужеродного жира, последний проявляет наклонность откладываться в жировых депо животного неизмененным, причем нормальный состав резервного жира нарушается.

Мы уже упоминали, что если взять какой-либо сложный эфир и нагреть его с едким натром, то получается натриевая соль и свободный спирт. Это справедливо и для жиров: если их кипятить некоторое время с едким натром, то освобождается глицерин и образуются натриевые соли жирных кислот. Этот процесс называется омылением, так как он лежит в основе процесса получения мыла. Обычное мыло состоит из натриевых солей стеариновой и пальмитиновой кислоты и получается кипячением жиров с едким натром. Одновременно при этом освобождается гли-

церин, почему глицерин и производится обычно мыловаренными предприятиями. Натриевые мыла этих жирных кислот очень легко растворимы в воде и дают щелочные растворы, моющие свойства которых хорошо известны.

Когда мыло подвергается действию минеральной кислоты, жирные кислоты освобождаются и всплывают на поверхность раствора. Кальциевые и магнезиальные мыла указанных высших жирных кислот нерастворимы и выделяются в виде хлопьев, когда мыло растворяют в жесткой воде. Зеленые нерастворимые медные соли жирных кислот образуются, если мыло привести в соприкосновение с раствором азотнокислой меди; эта реакция употребляется в качестве микроскопической пробы при клинических исследованиях для обнаружения мыл и непереваренных жиров или свободных жирных кислот в кале.

Чтобы обнаружить и определить жиры, обычно используют их физические свойства. Жиры могут быть извлечены из высушенных питательных веществ или других материалов кипячением с крепким спиртом; в этом случае жиры можно отделить затем в виде эмульсии, вливая полученный спиртовый раствор в воду. Их можно экстрагировать также кипячением с эфиром и получить неизмененными, выпаривая затем растворитель. В виде качественной реакции на жиры можно использовать жирное пятно, которое они оставляют на клочке бумаги. Единственное вещество, которое подобным же образом делает бумагу прозрачной,—это глицерин, но он нерастворим в эфире, не экстрагируется им и легко может быть отмыт из бумаги водой. Кроме того, пятно, получившееся от жира, окрашивается растворимыми в жире красками, например, суданом III, как это и делается при гистологических исследованиях жиров. Количественно жиры обычно определяются экстракцией эфиром в особых экстракторах непрерывного действия, таких, как аппарат Сокслета, с последующим выпариванием эфирного экстракта во взвешенной склянке.

Идентификация отдельных жиров является более сложной задачей. Полный гидролиз, сопровождаемый разделением и определением всех освободившихся жирных кислот, является слишком сложным процессом для обычного исследования. Тем не менее полностью омылив жир известным количеством едкой щелочи и оттитровав обратно оставшийся избыток последней, мы узнаем количество щелочи, необходимое для нейтрализации всех жирных кислот, освободившихся из взятой навески жира. Очевидно, что это «число омыления» будет изменяться в соответствии с меняющимися соотношениями различных жирных кислот и может быть использовано для идентификации натуральных жиров. Другим способом идентификации жиров является метод, основывающийся на хорошо известном из органической химии свойстве ненасыщенных соединений присоединять галоиды, например, иод. В частности, олеиновая кислота и ее глицериды обладают этим свойством, и поэтому то количество иода, которое связывает жир, дает представление о содержании в этом жире олеиновой

или другой ненасыщенной кислоты. Отсюда становится понятным значение «иодного числа» для исследования жиров. Третий метод основывается на определении содержания летучих жирных кислот—масляной и других. Этот метод употребляют, в частности, для того, чтобы отличить коровье масло, содержащее летучие жирные кислоты, от маргарина, в котором их нет. Маргарин получается при гидрогенизации, т. е. при восстановлении дешевых растительных масел водородом в присутствии никеля в качестве катализатора; ненасыщенные жидкие глицериды превращаются при этом в твердые насыщенные жиры.

Рассмотрим теперь источники жиров для организма. Самым непосредственным источником жира являются жиры пищи. Хотя организм использует в качестве таких источников жиры пищи и при этом не требуется их превращения в какие-либо другие вещества, раньше чем они будут использованы или отложены в запас, все же содержащийся в пище жир подвергнется процессу переваривания, прежде чем он всосется из кишечника. Этот процесс состоит в гидролизе жиров на глицерин и жирные кислоты, что происходит под влиянием жирорасщепляющих ферментов, или липаз. Некоторое количество этого фермента выделяется еще желудком, но его действие, вероятно, невелико вследствие того, что жир в кислой среде не эмульгируется. Главная липаза пищеварительного канала выделяется в панкреатическом соке; ее раньше называли «стеапсином». Эта липаза оказывает весьма сильное гидролизующее действие на жиры. Этому благоприятствуют в очень значительной степени свойства желчи, которая выделяется в двенадцатиперстную кишку одновременно с панкреатическим соком.

Прежде всего желчь имеет выраженную щелочную реакцию, так что панкреатическая липаза действует в щелочной среде. Вследствие этого жирные кислоты по мере их освобождения превращаются в мыла, которые способствуют дальнейшему перевариванию, раздробляя частички жира на мелкие шарики эмульсии и увеличивая этим поверхность жира, доступную действию фермента. Это явление легко можно продемонстрировать, поместив каплю оливкового масла на поверхность раствора углекислого натрия: при взбалтывании масло дает молочнобелую эмульсию. Совместное действие мыла и желчи стабилизирует эмульсию жира,—другими словами, предупреждает слияние отдельных капелек жира. Такая стабилизация является результатом понижения поверхностного натяжения на границе жир—вода, благодаря уменьшению сил поверхностного натяжения, которые обусловливают стремление жидкости уменьшить свою поверхность и благоприятствуют слиянию маленьких капелек эмульсии в большие. Вещество, понижающее поверхностное натяжение, имеет наклонность сосредоточиваться на поверхности, так что жировые шарики обволакиваются пленкой мыла, которая и предохраняет отдельные капельки от взаимного слияния. Эмульгирующие свойства желчи легко иллюстрировать следующим опытом. Обычные чернила на бумаге, пропитанной жиром, сливаются в отдельные

капельки, но если к чернилам добавить немного желчи, то они легко распределяются по бумаге и на ней можно писать. Эти же самые свойства желчи используют при обнаружении желчи в моче больных: на поверхность мочи насыпают серный цвет; если моча нормальна, то серный цвет не смачивается и плавает на поверхности; если же моча содержит желчь,—серный цвет немедленно опускается на дно сосуда. Желчь обязана этими своими замечательными свойствами желчным солям, которые она содержит. Желчные соли являются натриевыми солями гликохолевой и тауроxолевой кислот, сложных «желчных кислот», основной компонент которых, холевая кислота, близок по структуре к холестерину, тоже содержащемуся в желчи. Значение этих желчных солей заключается также в том, что они способствуют растворению обычно нерастворимых жирных кислот, так что последние не выпадают из раствора даже в самом дистальном отрезке тонкого кишечника, где реакция пищевых масс далеко не такая щелочная, как в двенадцатиперстной кишке. Следует упомянуть, что переваривание жиров продолжается и в этой части кишечника благодаря наличию другой липазы, выделяющейся с кишечным соком.

Теперь мы рассмотрим механизм всасывания продуктов гидролиза жиров из пищеварительного тракта. Следует напомнить, что аминокислоты, образующиеся при переваривании белков, всасываются в кровяной ток через капиллярные сосуды ворсинок тонких кишок; всасывание жиров идет иным путем. Смесь глицерина и мыл проникает в цилиндрические клетки, покрывающие ворсинки, и там, в этих клетках, жирные кислоты и глицерин вновь соединяются, образуя жиры, которые постепенно накапливаются в виде капелек. Таким образом, главной целью, если можно так выразиться, расщепления жиров в пищеварительном канале на жирные кислоты и глицерин является превращение жиров в такие вещества, которые настолько легко растворимы, что могут проникнуть сквозь пограничную мембрану кишечных клеток. Если исследовать гистологически клетки кишечника во время всасывания жиров, то можно установить, что капельки жира, двигаясь от поверхности клетки, ограничивающей полость кишечника, к противоположному концу, становятся все больше и больше. Покидая клетку с противоположного конца, капельки жира поступают в центральную полость сосочка, которая, благодаря содержащемуся в ней жиру, получила название млечного сосуда. Эта полость является в сущности лимфатическим сосудом; содержащаяся в нем жидкость, называемая хилусом, постепенно, по мере всасывания жира, все больше обогащается капельками его; затем она поступает в лимфатическую систему и, наконец, попадает через грудной проток в кровь. Если жиры не используются тотчас же для энергетических целей, они откладываются неизмененными в жировых депо, которые расположены преимущественно в брыжейке и подкожной соединительной ткани. Всасывание переваренных жиров даже при нормальных условиях происходит

далеко не полностью; в кале около четверти сухого веса приходится на долю растворимых в эфире веществ, бо́льшую часть которых составляют жирные кислоты и непереваренные жиры. В случае закупорки желчного протока количество непереваренного жира значительно возрастает, что указывает лишний раз на важную роль желчи не только в переваривании жиров, но и в их всасывании.

Мы уже упомянули, что резервные жиры животного при нормальных условиях представляют смесь глицеридов стеариновой, пальмитиновой и олеиновой кислот, находящихся в строго определенных соотношениях, постоянных и характерных для различных видов животных. Отсюда следует, что при питании животного чужеродным жиром смесь эфиров, находящихся в пищевом жире, должна превращаться в ту смесь, которая характерна для данного животного вида. Это превращение происходит уже в клетках ворсинок, в которых жир ресинтезируется во время всасывания, так как жир млечной жидкости более соответствует по своему составу жиру питающегося животного, чем жиру пищи. Но возможности этого превращения у организма ограничены, так что при большом избытке чужеродного жира последний может откладываться, не изменяя своего состава. Поэтому нормальный жир собаки можно заменить значительно более мягким жиром с низкой точкой плавления, откармливая собаку большими количествами льняного масла, или, наоборот, заполнить ее депо более твердыми жирами, чем нормальный, вводя в ее пищу в избыточном количестве баранье сало. Подобным же образом чужеродный жир, скармливаемый животному в период лактации, может появиться в молоке. Смесь эфиров, характерная для данного животного вида, образуется не только из жиров, но также и из других составных частей пищи, в первую очередь из углеводов. Откармливание скота кормом, обильным углеводами, является типичным примером такого рода экспериментов; объектом наиболее точного исследования были свиньи. Были, например, взяты две свинки одного и того же помета и возможно более близкого веса; одна была тотчас же убита, и количество жира в ее туше было точно определено. Можно было принять, что другая парная свинка содержала к моменту начала опыта то же количество жира. Затем вторая свинка получала в течение нескольких месяцев тщательно анализированную пищу. К концу этого срока было установлено, что количество жира, содержащегося в ее туше, не только стало больше начального, но превысило и то количество, которое свинка получила за время откармливания; избыточный жир возник, следовательно, за счет углеводов.

С несомненностью известно, что синтез жира из углеводов происходит весьма широко в организме всех животных, включая и человека. Но, несмотря на это, экспериментально установлено, что человек при всех обстоятельствах нуждается в некотором количестве натуральных жиров в своей пище, быть может, потому, что смесь жирных кислот, образующихся из углеводов, не включает

некоторых кислот с разветвленной или в других отношениях специфической цепью углеродных атомов, встречающихся в натуральных жирах.

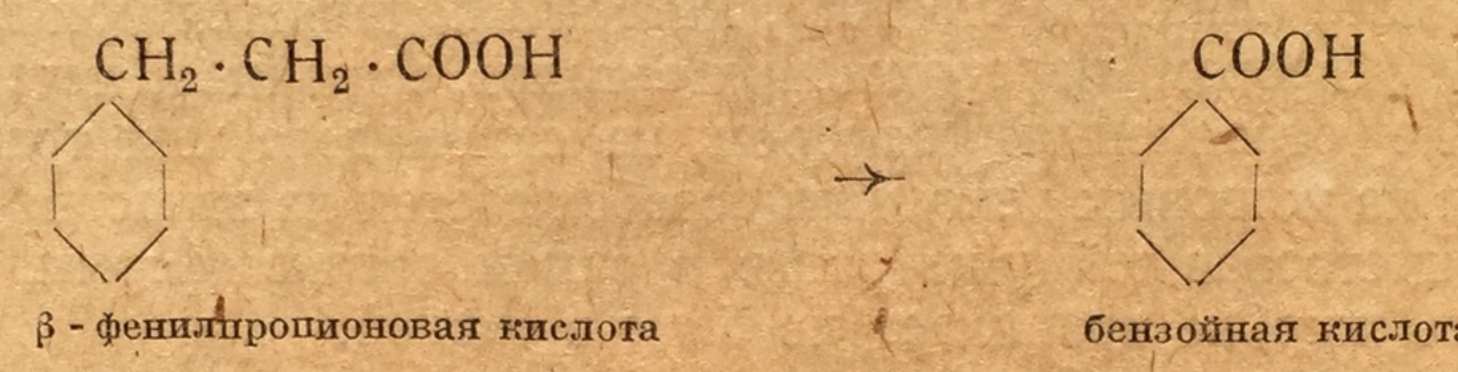
Вопрос о том, в какой степени белки могут служить источником жиров, весьма спорный. Вначале предполагали, что этот процесс возможен, так как животное, откармливаемое тощим мясом, безусловно в состоянии откладывать жир. Но потом было установлено, что даже в тощем мясе мышечные волокна содержат такое количество жира, что им можно покрыть все его отложенное количество, так что белки не являются необходимыми для новообразования жира. Затем было найдено, что жир, который появляется при так называемом жировом перерождении органов, например, печени, в результате отравления фосфором, на самом деле или транспортируется из жировых депо, или освобождается из замаскированной, но существовавшей уже ранее в самом органе формы, так что и здесь жир не возникает из белков тканей.

Этот вывод, вообще говоря, является неожиданным, так как мы знаем, что белки в организме могут превращаться в углеводы, и можно было бы думать, что эти углеводы способны, подобно углеводам пищи, в дальнейшем превращаться в жиры. Но насколько сейчас можно судить, в организме млекопитающих этого не происходит, и избыток белков превращается в углеводы, но не в жиры.

Существование замаскированного жира тканей, т. е. жира, не обнаруживаемого при окраске осмиевой кислотой, но тем не менее экстрагируемого из тканей алкоголем, указывает на то, что, кроме вполне очевидной роли жира как горючего материала, он играет также роль важной составной части живого вещества. В случае потребности в горючем материале используется отнюдь не весь жир организма; несмотря на голодание, в тканях остается некоторое постоянное количество жира, который, очевидно, играет какую-то важную роль в их жизнедеятельности. Исключительным примером такого рода является мозг, который при голодании не теряет сколько-нибудь заметного количества своих жиров для удовлетворения общих потребностей организма, хотя и содержит жиры в большом количестве. Но так или иначе, основной химической функцией жиров в организме является использование их как топлива в тканях. В связи с этим следует подчеркнуть, что жиры являются весьма экономной формой резервов энергетического материала, так как молекула жиров состоит почти исключительно из углеродных и водородных атомов, содержит мало кислорода (гораздо меньше, чем молекула углеводов) и совсем не содержит неокисляющегося азота, присутствующего в белковой молекуле. Таким образом, жиры богаче потенциальной химической энергией, чем углеводы или белки. 1 г жира дает при окислении 9,5 больших калорий против 5,6 калорий, получаемых из 1 г белков, и 4,2 калории из 1 г углеводов.

Стремление установить последовательные стадии окисления длинных цепей жирных кислот до углекислоты и воды вводит

нас в одну из интереснейших биохимических проблем. Отчетливые представления по этому вопросу начинают возникать с 1904 года, когда Кнооп экспериментально осуществил удачную идею «фиксировать» один из углеродных атомов жирной кислоты присоединением к нему бензольного кольца и тем самым сделать его недоступным для окислительных процессов в тканях. Кнооп установил, что при кормлении животного β-фенилпропионовой кислотой два углеродных атома в ее боковой цепи отщепляются, и при этом образуется бензойная кислота, которая в соединении с глицином выделяется с мочей.



Если же кормить животное кислотой, у которой в боковой цепи на один углеродный атом больше, а именно фенилмасляной кислотой, то выделяется глициновый дериват фенилуксусной кислоты:

Кислота с еще одним лишним углеродным атомом в боковой цепи дает при своем окислении опять бензойную кислоту; следующая, у которой вновь прибавляется один углеродный атом в боковой цепи, снова дает фенилуксусную кислоту и так далее. В общем боковая цепь, содержащая нечетное число углеродных атомов, всегда дает бензойную кислоту, а боковая цепь с четным числом углеродных атомов—фенилуксусную кислоту. Эта поразительная закономерность показывает, что в указанных соединениях углеродные атомы могут отщепляться при окислении в организме только по два одновременно. Если бы они могли отщепляться по одному, то было бы совершенно непонятно, почему фенилуксусная кислота не может потерять еще один углеродный атом в своей боковой цепи, а бензойная кислота стать конечным продуктом всех фенилжирных кислот. Поэтому предполагают, что длинные цепи жирных кислот окисляются в организме посредством процесса β-окисления, который заключается в том, что от молекулы жирной кислоты одновременно отщепляется по два углеродных атома, причем тот углерод, который находится в β положении по отношению к первоначальной карбоксильной группе, превращается в углерод карбоксильной группы новой жирной кислоты, содержащей на два углеродных атома меньше; отщепление по два угле-

родных атома продолжается до тех пор, пока вся жирная кислота не окислится полностью до углекислоты и воды. Процесс может быть изображен следующим образом:

$$CH_3 \cdot (CH_2)_n \cdot COOH \rightarrow CH_3(CH_2)_{n-2} + 2CO_2 + 2H_2O.$$

Однако совсем недавно было установлено, что скармливание фенилпроизводных жирных кислот с девятью или десятью углеродными атомами дает относительно меньший выход бензойной и фенилуксусной кислот, чем это наблюдается у соединений с короткой цепью. Между тем жирные кислоты с девятью и десятью углеродными атомами как будто более близки к жирным кислотам, с которыми имеет дело организм, чем те простые соединения, которые исследовал Кнооп. Это наводит на мысль, что жирные кислоты с длинной углеродной цепью могут окисляться и другими способами, помимо β-окисления. Однако, употребляя подходящие окисляющие агенты, вроде перекиси водорода, можно убедиться, что даже вне организма жирные кислоты с длинной углеродной цепью (например, стеариновая кислота) имеют тенденцию окисляться в β-положении; как главный, хотя и не единственный продукт в этом случае получается соответствующая β-кетокислота.

Отщепление (ведущее в последнем счете к образованию углекислоты и воды) двух конечных групп молекулы жирной кислоты происходит в несколько стадий, и естественно возникает вопрос о деталях этого процесса. Могло бы быть, например, что первая стадия состоит во введении OH-группы в β-положение, хотя это мало вероятно, так как оксикислоты в общем не очень легко окисляются в организме; или (это более вероятно) β-группа превращается в кетогруппу, или, наконец, благодаря оксидативному отщеплению водорода, возникает двойная связь между α- и β-углеродными атомами. Трудность выбора между этими возможностями усугубляется тем, что при опытах с кормлением животного такой, например, кислотой, как фенилпропионовая, в моче обнаруживаются, кроме бензойной кислоты, также и небольшие количества соответствующих оксикислот, кетокислот и ненасыщенных кислот. Что касается образования ненасыщенных кислот, то следует подчеркнуть, что в течение голодания и беременности, когда предъявляются повышенные требования на резервный жир, печень становится богатой жиром, который отличается от обычного жира депо тем, что в нем содержится больше ненасыщенных кислот. Этот факт можно объяснить, предположив, что первой ступенью окисления жирных кислот является возникновение двойной связи в ее молекуле. Но это ни в коем случае не означает, что ненасыщенные кислоты отличаются более легкой окисляемостью в организме по месту двойной связи, как это наблюдается in vitro. Наоборот, известны случаи, когда можно предполагать, что первая ступень утилизации ненасыщенных соединений в организме состоит в их восстановлении в соответствующие насыщен-

ные соединения. Это можно показать, взяв соединение, в котором двойная связь находится в таком положении, что β-окисление дает иной продукт, нежели тот, который получился бы при разрыве двойной связи. Например, фенилизокротоновая кислота

$$C_6H_5 \cdot CH = CH - CH_2 - COOH$$

при скармливании животному дает фенилуксусную кислоту:

$$C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot COOH,$$

т. е. ведет себя так, как будто бы она сначала восстанавливается в фенилмасляную кислоту, а затем только окисляется в β-положении; вследствие этого не получается бензойной кислоты, как это следовало бы ожидать, если бы углеродная цепь разрывалась по месту двойной связи. Таким образом, мы приходим к заключению, что в качестве наиболее вероятного непосредственного промежуточного продукта при β-окислении образуется β-кетокислота; в пользу этого взгляда мы приведем еще новые доказательства, когда будем изучать нарушение обмена жиров при диабете.

Имеется, впрочем, и другой путь окисления жирных кислот в организме. Установлено, что если кормить животное жирными кислотами с особенно длинной цепью, то при этом выделяется некоторое количество дикарбоновой кислоты, образующейся в результате окисления в COOH-группу метильной группы CH_3, стоящей на противоположном от карбоксила конце молекулы жирной кислоты. Это называют ω-окислением, так как при этом окисляется последний углерод цепи. Такой путь окисления был установлен по отношению к жирным кислотам, содержащим 9, 10, 11 и 12 углеродных атомов. Вот пример этому:

$$CH_3 - (CH_2)_9 - COOH \rightarrow HOOC \cdot (CH_2)_9 - COOH.$$

Продукт окисления содержит по одной карбоксильной группе на каждом конце цепи, и следует ожидать, что в дальнейшем будут окисляться углеродные атомы в β-положении по отношению к каждой из двух карбоксильных групп с образованием новой дикарбоновой кислоты, в которой на 4 углеродных атома меньше, чем в исходной. Этот процесс похож на горение свечи с двух концов.

Но, если даже мы были бы хорошо осведомлены о первых стадиях β-окисления, все равно остался бы неразрешенным вопрос о той форме, в которой отщепляются два углеродных атома. Углекислый газ, в виде которого они, в конце концов, выделяются, вероятно, является только конечным продуктом их постепенных и сложных превращений; в данное время мы не имеем никаких сведений, каковы эти превращения.

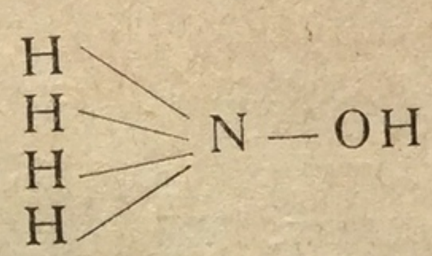
Прежде чем закончить этот раздел жирового обмена, мы должны обратить внимание на тот интересный факт, что все жирные кислоты, встречающиеся в живых организмах (а поэтому и в пищевых веществах), содержат четное число углеродных атомов.

Например, стеариновая кислота с 18 и пальмитиновая кислота с 16 углеродными атомами являются, как мы видели, обычными составными частями животных жиров, но 17-углеродная маргариновая кислота (которой, однако, не содержится в маргарине) является искусственным продуктом органической химической лаборатории. Это наводит на мысль, что жирные кислоты не только отщепляют по два углеродных атома одновременно, но и в процессе синтеза жиров в тканях цепь жирных кислот увеличивается одновременно на два атома.

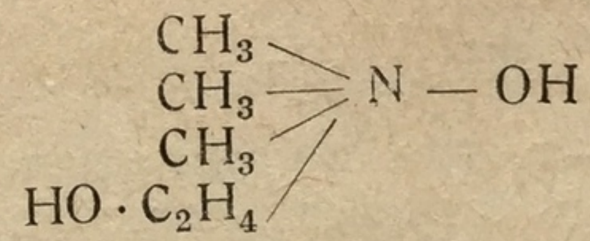
Современные исследования подтверждают это положение; не входя в детали, мы можем считать весьма вероятным, что молекула высших жирных кислот образуется в организме путем конденсации альдегидов с пировиноградной кислотой. Мы увидим далее, что альдегиды и пировиноградная кислота являются промежуточными продуктами метаболизма углеводов, и это дает нам ключ к пониманию путей образования жиров из углеводов пищи, о котором мы уже упоминали.

Лецитин. Фосфатиды

Жиры, экстрагированные из тканей обычным способом, содержат некоторое количество веществ, обладающих более сложным строением, чем простые глицериды, которыми мы до сих пор занимались. Одним из таких соединений является содержащий фосфор лецитин. Он содержится практически во всех клетках и тканях, из которых может быть извлечен эфиром или алкоголем и затем осажден ацетоном. Этим способом лецитин был впервые получен из желтка яиц, на что указывает и его название (от греческого lecithos—желток яйца). Химическая структура лецитина хорошо известна, так как это вещество легко гидролизуется при кипячении с разведенной щелочью; в этом отношении лецитин сходен с истинными жирами. При расщеплении молекулы лецитина образуется одна молекула глицерина, одна молекула стеариновой и одна молекула олеиновой кислоты, а кроме того, по молекуле фосфорной кислоты и основания, называемого холином. Последний является довольно простым химическим веществом с хорошо известным строением. Холин—замещенный гидрат аммония, у которого три из четырех атомов водорода замещены метильными группами, а оставшийся, четвертый,—остатком этилового спирта:



Гидрат аммония



Холин
(триметил-оксэтил-гидрат-аммония)

В молекуле лецитина стеариновая и олеиновая кислоты соединены с двумя алкогольными группами глицерина, а фосфорная

кислота—с третьей. Но фосфорная кислота, будучи многоосновной кислотой, соединяется еще и с холином:

Глицерин — стеариновая кислота
— олеиновая кислота
— фосфорная кислота
|
холин

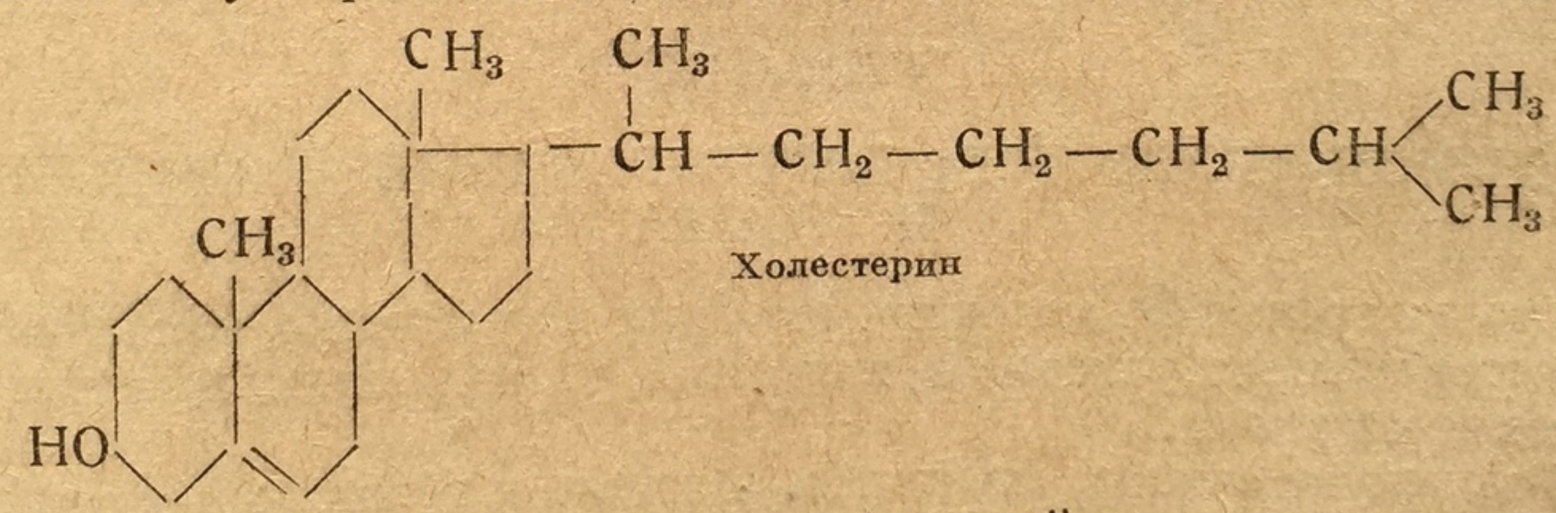
Значительное сходство в структуре лецитина и простых жиров очевидно.

Лецитин является представителем группы родственных между собой химических веществ, которые отличаются друг от друга лишь в деталях, а именно содержащимися в них жирными кислотами и основаниями. Так как они все содержат фосфор, то их относят к группе ф о с ф а т и д о в. Менее изучены фосфатиды, изолированные из мозга; они встречаются также и в других органах, например, в сердце, печени, почках. Фосфатиды имеют большое значение для организма. Возможно, что они являются той формой, в виде которой транспортируется кровью бо́льшая часть жира. Увеличение количества фосфора в крови, оттекающей из лактирующей молочной железы, показывает, что фосфатиды используются при образовании молока. Каждая ткань содержит характерные для нее фосфатиды, и последние играют, вероятно, немалую роль, определяя отношение протоплазмы к воде и влияя на проницаемость клеточной оболочки для растворенных веществ. Отношение самого лецитина к воде весьма интересно. Его молекулу, обладающую выраженной полярной структурой, можно рассматривать как хорошо растворимую в воде на одном конце (часть с фосфорной кислотой и холином) и совершенно нерастворимую на другом (часть с жирными кислотами). Фактическое взаимоотношение лецитина и воды является своего рода компромиссом между этими противоположными свойствами лецитина: в точном смысле слова он в воде не растворим, но постепенно образует с ней стабильную эмульсию. Интересно заметить, что тромбокиназа, принимающая участие в процессе свертывания крови, оказывается идентичной кефалину, давно известному фосфатиду, который отличается от лецитина только наличием в качестве основания аминоэтилового алкоголя $NH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2OH$ вместо холина.

Х о л е с т е р и н. С т е р и н ы

Глицерин—далеко не единственный алкоголь, эфиры которого обнаружены в натуральных жирах и восках. Наиболее важным алкоголем, кроме глицерина, является холестерин, встречающийся частично в свободном состоянии, частью в виде сложных эфиров. Эфиры холестерина содержатся, например, в секрете сальных желез кожи; этим объясняется его наличие в овечьей шерсти,

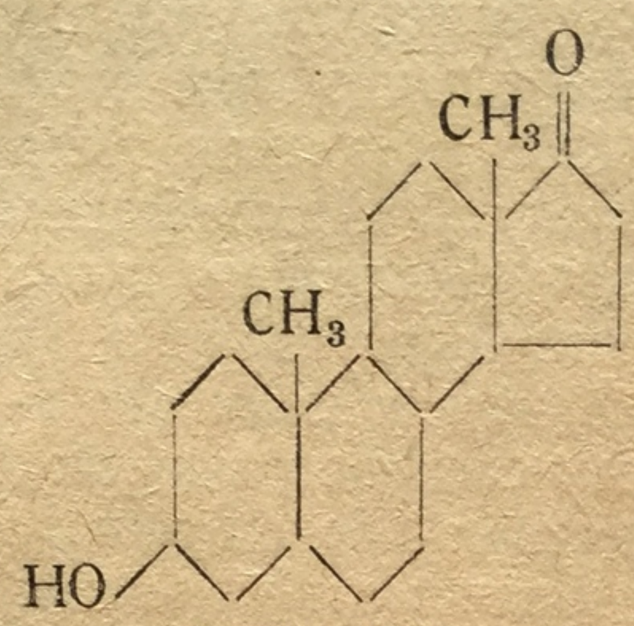
откуда его экстрагируют для получения ланолина. Ланолин с успехом используется в качестве жирной основы для мазей, так как в противоположность глицеридам эфиры холестерина недоступны действию липолитических ферментов бактерий, и поэтому ланолин не прогоркает. Холестерин в свободном состоянии содержится в желчи, откуда часто выделяется в виде желчных камней. Впервые он был получен именно из этого источника; отсюда возникло и его название (от греческого слова chole—желчь, steros—плотный). Но он вообще широко распространен в организме и содержится в значительных количествах в белом веществе нервных волокон. Будучи растворим во многих органических растворителях, холестерин легко может быть получен путем экстракции мозга таким растворителем, как ацетон. Он кристаллизуется в плоские ромбические пластинки, у которых один из углов характерно срезан. Холестерин легко превращается в различные интенсивно окрашенные вещества; таким путем он и может быть обнаружен. Из этих реакций следует упомянуть одну, а именно появление фиолетового окрашивания, быстро переходящего в синевато-зеленое, когда к раствору холестерина в хлороформе прибавляют уксусный ангидрид и немного крепкой серной кислоты. Характерным свойством холестерина является далее то, что кристаллы холестерина, смоченные на предметном стекле крепкой серной кислотой, окрашиваются по краям в красный цвет; при прибавлении небольшого количества иода кристаллы становятся темнофиолетовыми и, наконец, черными. Формула холестерина $C_{27}H_{45}OH$. В противоположность глицерину холестерин — одноатомный алкоголь, но его ядро имеет сложное строение, состоит из восстановленных углеродных колец и содержит одну двойную связь.



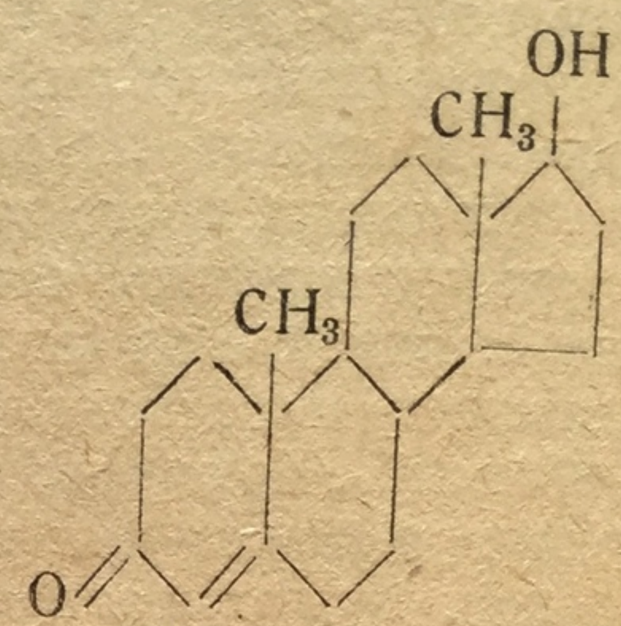
Холестерин

Холестерин—наиболее распространенный представитель целой группы веществ, содержащих тот же самый стериновый скелет. Мы уже упоминали, что холевая кислота желчи близка к холестерину. Позднее мы будем иметь случай ближе познакомиться с эргостерином, другим важным представителем группы стеринов, который путем внутримолекулярной перегруппировки превращается в витамин D. Наконец, даже мужские и женские половые гормоны—андростерон, выделенный из мужской мочи, и тестостерон из интерстициальных клеток мужских половых желез, фолликулин (эстрон) и лютеин (прогестерон) из интерстициальных клеток яичников и желтого тела—тоже являются простыми стериновыми дериватами.

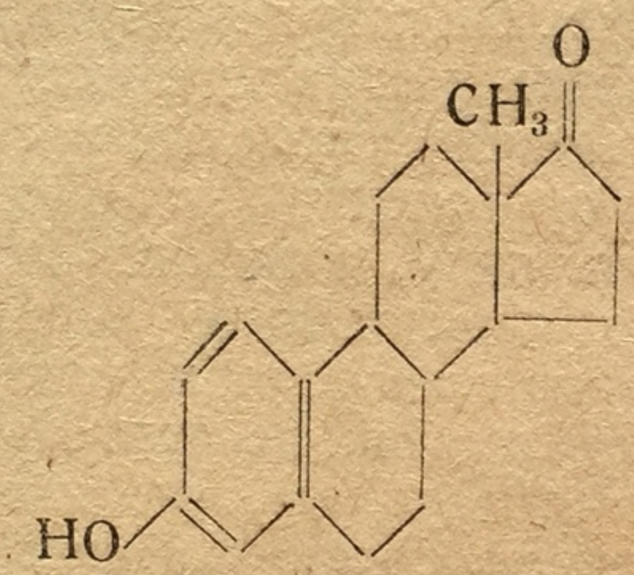
Мы приводим их формулы:



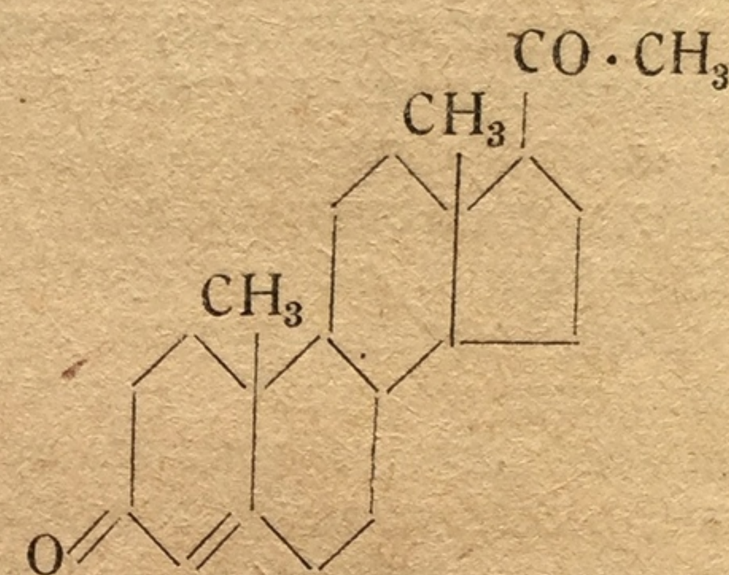
Андростерон



Тестостерон



Фолликулин (эстрон)



Прогестерон (лютеин)

Как видно из этих формул, различие между мужским и женским полом сводится к наличию или отсутствию малоромантических гидроксильных и метильных групп, присоединенных к одному и тому же основному стериновому скелету.

ГЛАВА IX

ХИМИЯ УГЛЕВОДОВ; ПЕРЕВАРИВАНИЕ КРАХМАЛА И САХАРА

С точки зрения физиологии животных и медицины, важнейшими представителями углеводов являются разные виды простых сахаров и крахмала.

В молекуле сахара, крахмала, а также и в остальных членах группы углеводов на каждый атом кислорода приходится два атома водорода, т. е. имеет место то же соотношение, что и в воде. Поэтому формула любого углевода может быть представлена как соединение нескольких атомов углерода с молекулами воды, откуда и возникло само название всей этой группы веществ. Следует заметить, что название углеводов выражает именно указанную выше особенность их «валового» состава и не относится к способу соединения водородных и кислородных атомов внутри молекулы. Вместе с тем должно быть подчеркнуто, что отнюдь не каждое вещество, в молекуле которого водородные и кислородные атомы находятся в отношении 1 : 2, принадлежат к группе углеводов; например, молочная кислота, хотя ее формула $C_3H_6O_3$ имеет именно

такое соотношение водородных и кислородных атомов, конечно, не относится к углеводам. Термин «углевод» в действительности распространяется на сахара и продукты их конденсации. В связи с этим предлагалось заменить в известной мере неопределенное название «углеводы» термином «глюциды», но до сих пор это предложение не получило общего признания.

Так как сахара являются наиболее простыми углеводами, мы начнем изучение с них. Каждый знает общие свойства сахаров. Обычно это бесцветные кристаллические вещества, хорошо растворимые в воде и обладающие более или менее выраженным сладким вкусом.

Тростниковый сахар является наиболее известным, но отнюдь не самым типичным представителем этой группы веществ. Сахара естественно распадаются на две главные категории: группу простых сахаров, или моносахаридов, и сложных сахаров — дисахаридов, которые являются продуктами конденсации моносахаридов. Распространеннейшие моносахариды, глюкоза и фруктоза[1], имеют по шести углеродных атомов в молекуле и молекулярную формулу $C_6H_{12}O_6$; они называются гексозами (от греческого слова hex—шесть). Моносахариды с пятью углеродными атомами и формулой $C_5H_{10}O_5$ (пентозы) также хорошо известны, но за исключением того, что пентозы входят в состав молекулы нуклеиновой кислоты, они не имеют сколько-нибудь широкого значения в метаболизме животных. Среди сложных сахаров наиболее важными являются дисахариды: тростниковый сахар (сахароза), затем мальтоза, сахар из солода и, наконец, лактоза, сахар молока (от латинского слова lac, lactis—молоко). Каждое из этих веществ можно рассматривать как продукт конденсации двух молекул моносахаридов с выделением одной молекулы воды, так что их валовая формула будет $C_{12}H_{22}O_{11}$. Дисахариды можно расщепить кипячением с разведенной кислотой; при этом они быстро гидролизуются на составляющие их моносахариды, и получаются следующие продукты:

Тростниковый сахар → 1 мол. глюкозы + 1 мол. фруктозы.
Мальтоза → 1 мол. глюкозы + 1 мол. глюкозы.
Лактоза → 1 мол. глюкозы + 1 мол. галактозы.

Галактоза—это гексоза, о которой мы еще не упоминали; для обозначения ее использовано греческое название молока (galaktos), тогда как латинский термин сохранен для соответствующего дисахарида.

Уравнение любого из вышеуказанных процессов гидролиза будет следующим:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6.$$

---

[1] Глюкоза называется также декстрозой и виноградным сахаром. Важно запомнить, что эти три названия относятся к одному и тому же веществу. Точно так же левулоза и плодовый сахар являются различными названиями фруктозы.

Нужно заметить, что каждый из дисахаридов, с которыми мы познакомились, при гидролизе обязательно дает одну молекулу глюкозы; все они являются, таким образом, соединениями глюкозы и входят в группу глюкозидов.

Не касаясь некоторых более сложных, но для наших целей менее важных углеводов, мы перейдем теперь к самым сложным представителям группы, молекула которых состоит из огромного числа моносахаридов. Среди этих углеводов более всего нас интересуют крахмалы и до некоторой степени целлюлоза, которая образует материал клеточных стенок в растительных тканях. Они объединяются в группу полисахаридов, и так как соединение молекул моносахаридов происходит в общем с выделением одной молекулы воды из каждой молекулы гексозы, то молекулярная формула полисахаридов приближается к $(C_6H_{10}O_5)_n$, где n—число порядка от нескольких десятков до сотни и выше. Число молекул моносахаридов, образующих химическую структуру полисахаридов, так велико, что понятие молекулы с трудом применимо к этим веществам.

Современный рентгеновский анализ показал, что в кристалле обычной поваренной соли атомы натрия и хлора распределены совершенно равномерно в особой пространственной решетке, так что взаимоотношения всех атомов абсолютно одинаковы. Этим же методом установлено, что в молекулах полисахаридов, именно целлюлозы, которая изучалась наиболее интенсивно, моносахариды расположены в виде длинной цепи. Если бы можно было разделить эту цепь ножом на отдельные куски, то любая часть заслуживала бы название целлюлозы в той же мере, как и исходный комплекс, хотя нож отделил фрагменты, первоначально, несомненно, связанные силами химического порядка. Трудно себе представить возможность таких операций по отношению к какой-либо молекуле в строго химическом понимании, и именно эта причина побудила нас уже ранее указать, что понятие молекулы неприложимо к веществам столь сложного строения, как полисахариды, а также и к подобным им субстанциям вроде белков и высокополимеризованных углеводородов типа каучука.

Таков беглый обзор различных представителей группы углеводов. Теперь нам предстоит перейти к более детальному рассмотрению некоторых их химических свойств. Обращаясь к сахарам, следует отметить, что одним из самых характерных свойств большинства сахаров является их редуцирующая способность. Эти редуцирующие свойства лежат в основе наиболее обычной качественной реакции на сахара. При кипячении сахара с реактивом, состоящим из сернокислой меди, едкого натра и виннокаменнокислого калия-натрия (так называемая фелингова жидкость), образуется красный осадок закиси меди. Способностью восстанавливать фелингову жидкость обладают глюкоза, фруктоза, а также лактоза и мальтоза; но в общем дисахариды имеют значительно меньшую восстановительную способность, т. е. при равных концентрациях с моносахаридами они восстанавливают меньшее

количество меди. Имеются и такие сахара, в первую очередь, тростниковый сахар, которые совершенно не восстанавливают фелинговой жидкости. Причины этого станут ясны позднее, когда мы сравним химическую структуру всех этих веществ. Очевидно, что восстановление фелингова раствора исследуемой пробой, например, мочи, еще не является доказательством присутствия в ней глюкозы, а следовательно, и основанием для диагноза диабета; с тем же успехом это могло бы быть обусловлено присутствием лактозы, что действительно и наблюдается у кормящих грудью женщин, когда в период лактации организм вырабатывает огромные количества молочного сахара.

К этому следует добавить, что в кислом растворе медные соли восстанавливаются значительно труднее, чем при щелочной реакции (которой обладает, например, фелингова жидкость). Поэтому раствор уксуснокислой меди в уксусной кислоте (реактив Барфэда) или, еще лучше, раствор молочнокислой меди в молочной кислоте восстанавливается достаточно легко только моносахаридами и поэтому может быть использован для различения моно- и дисахаридов. Все эти свойства сахаров могут быть использованы для целей качественного анализа растворов, содержащих сахар. Мы упомянем еще, что редуцирующие сахара могут быть отделены от тростникового путем осторожного окисления кипячением с постепенно добавляемой фелинговой жидкостью, пока не появится стойкий синеватый оттенок, указывающий на избыток реактива. Если теперь отфильтровать закись меди, то тростниковый сахар останется в фильтрате неизмененным. Он может быть определен далее отдельно, так как при подкислении крепкой соляной кислотой и при кипячении раствора тростниковый сахар быстро гидролизуется, распадаясь в эквимолекулярную смесь глюкозы и фруктозы, которая после нейтрализации восстанавливает фелингову жидкость и дает цветную реакцию с крепкой соляной кислотой и небольшим количеством раствора α-нафтола. В последнем случае освободившаяся при гидролизе фруктоза под влиянием крепкой кислоты превращается в циклическое соединение—альдегид оксиметилфурфурол, а последний конденсируется с α-нафтолом и дает пурпурное окрашивание; такую же реакцию дают и другие сахара. Более специфичной для фруктозы является реакция Селиванова: красное окрашивание при кипячении с соляной кислотой и резорцином; другие сахара, например, глюкоза, дают эту реакцию лишь после длительного кипячения; только фруктоза и тростниковый сахар, фруктоза которого освобождается при гидролизе, дают заметную окраску к тому моменту, когда смесь закипит.

Кроме реакции с α-нафтолом, фруктоза дает синее окрашивание при кипячении с реактивом Фулджера, который состоит из мочевины, хлористого олова и крепкой серной кислоты. За исключением этих реакций на фруктозу, мы практически не имеем какой-либо специфической цветной реакции для других сахаров. Поэтому, если в каком-либо материале обнаружен восстанавли-

вающий сахар, то для его идентификации применяются другие методы.

Когда химик установит группу, к которой принадлежит исследуемое органическое вещество, и дальше встает вопрос, какой именно представитель данной группы здесь имеется, то прибегают к определению точки плавления или кипения. Если вещество не плавится без разложения, его превращают в какой-либо кристаллический дериват, точка плавления которого легко определима. Сахара являются как раз такими веществами, которые разлагаются при нагревании; но они образуют с органическим основанием, фенилгидразином, желтые кристаллические соединения, называемые озазонами, которые имеют характерный кристаллический вид и отчетливую точку плавления, благодаря чему они (а следовательно, и исходные сахара) могут быть идентифицированы. Сам гидразин представляет собой продукт соединения двух аминогрупп $NH_2 \cdot NH_2$, а его фенильный дериват имеет формулу $C_6H_5 \cdot NH \cdot NH_2$. Чтобы получить озазон сахара, берут в пробирку 1% раствор сахара, добавляют около $^1/_2$ г солянокислого фенилгидразина и около 1 г уксуснокислого натрия. Уксуснокислый натрий действует как буфер и предупреждает резкое подкисление жидкости соляной кислотой, освобождающейся по мере связывания фенилгидразина (кислая среда препятствует реакции). Смесь подогревается, пока все компоненты не растворятся (в случае мутности фильтруется), затем нагревается в кипящей водяной бане в течение получаса. К этому сроку образуется озазон, и если он относительно трудно растворим подобно фенилглюкозазону, то он начинает кристаллизоваться уже из горячей жидкости. Если же озазон более растворим, как в случае лактозазона или мальтозазона, то он кристаллизуется, если оставить пробирку в водяной бане до полного охлаждения. Озазоны различных сахаров имеют характерную кристаллическую форму, которая позволяет их легко идентифицировать под микроскопом. Глюкозазон кристаллизуется в длинные желтые иглы, складывающиеся в пучки, лактозазон образует сферические скопления маленьких игол, напоминающие ежа, в то время как кристаллы мальтозазона состоят из пластинок, обычно складывающихся в розетки. Для полной идентификации исследование кристаллической формы должно быть дополнено определением точки плавления озазона, для чего он очищается перекристаллизацией из разведенного спирта. Точки плавления озазонов, с которыми приходится иметь дело при биохимической работе, следующие:

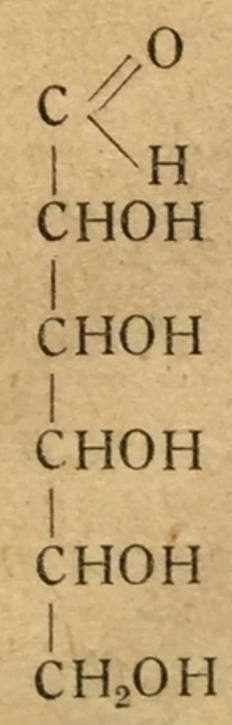
Фенил-глюкозазон	204—205°
Фенил-лактозазон	200°
Фенил-мальтозазон	206°

Следует упомянуть, что озазон, полученный из фруктозы, идентичен с фенил-глюкозазоном по той причине, что молекулы фруктозы и глюкозы отличаются только в двух группах, к которым как раз присоединяется фенилгидразин, в силу чего при образовании

озазона различие в структуре этих двух сахаров сглаживается. Тростниковый сахар совершенно не дает озазона, потому что, как мы увидим позже, соединение между глюкозным и фруктозным компонентами его молекулы происходит посредством тех активных групп, от которых зависят и редуцирующие свойства, и образование озазона.

Восстанавливающее действие сахара на раствор меди используется не только для качественного, но и для количественного определения сахара. Если прямо прибавлять раствор сахара в известный объем кипящей стандартизованной жидкости Фелинга, то бывает трудно уловить ту точку, когда исчезают последние следы синей окраски, благодаря наличию красного осадка закиси меди. Для устранения этой трудности было предложено много различных способов. Пэви прибавляет аммиак, который переводит закись меди в бесцветный раствор, но аммиак очень легко выкипает в течение титрования. Бенедикт предложил употреблять раствор меди, содержащий роданистый калий, так что получается белый осадок роданистой меди. В новом методе Хагедорна и Иенсена для определения сахара крови медный раствор совершенно исключен, и сахар определяется посредством восстановления красной кровяной соли в желтую. Количество красной кровяной соли, оставшееся невосстановленным, определяется далее прибавлением иодистого калия; выделившийся при этом иод титруется стандартным раствором гипосульфита. Таким образом, определение сахара превращается в обычное иодометрическое титрование. Едва ли нужно упоминать, что тростниковый сахар также может быть количественно определен этим способом, но лишь после гидролиза, когда образуется редуцирующая смесь глюкозы и фруктозы. Мы могли познакомить читателя с основными принципами количественного учета и качественного обнаружения и идентификации наиболее часто встречающихся сахаров, приведя относительно скудные данные об их химических свойствах. Но разобраться в более тонких различиях их свойств и во взаимоотношениях внутри той группы, отдельными членами которой они являются, возможно лишь при более полном знании их химической структуры. К этому мы теперь и перейдем.

Рассмотрим сначала наиболее распространенную гексозу—глюкозу. На основании многих анализов установлено, что молекулярная формула глюкозы $C_6H_{12}O_6$; относительно простой задачей было установить наличие в глюкозе «потенциальной» альдегидной группы и пяти гидроксильных групп и доказать, что глюкозу можно рассматривать как дериват парафинового углеводорода гексана C_6H_{14} с неразветвленной цепью. Все это дает нам основание предложить приводимую здесь формулу.



глюкоза

При тщательном сопоставлении формулы со всеми свойствами глюкозы сразу возникают

некоторые вопросы. Первый из них касается пространственного расположения отдельных атомных групп глюкозы, ибо до сих пор мы условно изображали формулу глюкозы на плоскости. Химические свойства вещества зависят, конечно, от химического характера групп, которые входят в его состав, но они определяются также и пространственным расположением этих групп. Если эти группы химически не очень активны, то различия в химических свойствах вещества, обусловленные пространственным расположением групп, незначительны и мало заметны. Но имеется одно физическое свойство молекулы, на которое влияют даже самые незначительные изменения пространственного расположения атомов или их групп. Это—явление оптической активности. Так как оптическая активность имеет очень большое значение в химии углеводов, то мы кратко рассмотрим ее.

Для этого необходимо прежде всего напомнить кое-что из теории природы света. В понимании классической теории, свет—это форма энергии, выражающаяся в колебаниях мирового эфира. Каждая частичка эфира совершает колебания перпендикулярно к направлению распространения света. В этом смысле свет напоминает волны на поверхности воды: легко можно заметить, что плавающие частички двигаются вверх и вниз перпендикулярно поверхности, в то время как волны распространяются горизонтально. Напротив, в звуке мы имеем пример волн, где вибрирующие частицы движутся вперед и назад как раз в направлении распространения звука. Очевидно, существует бесконечное число направлений, перпендикулярных направлению распространения света. Пусть, например, на рис. 8 жирная стрелка обозначает направление лучей света, распространяющихся вперед от читателя; тогда одной из возможных плоскостей, перпендикулярных к этой оси, будет изображенная на рисунке; в этом случае частички эфира будут колебаться вверх и вниз по пунктирной линии плоскости. Иная возможность представлена на рис. 9, где частицы эфира колеблются справа налево. Между этими двумя противоположными направлениями колебаний существует бесконечное число промежуточных. Обыкновенный свет, даже одноцветный (монохроматический), состоит из смеси лучей, в которых вибрация частичек эфира происходит во всех возможных плоскостях под прямым углом к направлению распространения света. Различными приемами, а легче всего пропуская свет через определенные кристаллы, из которых чаще всего употребляется исландский шпат, оказывается возможным отфильтровать все лучи, за исключением тех, колебания которых совершаются в одной определенной плоскости. «Профильтрованные» лучи, у которых колебания частиц эфира совершаются в одной плоскости, представляют собой так

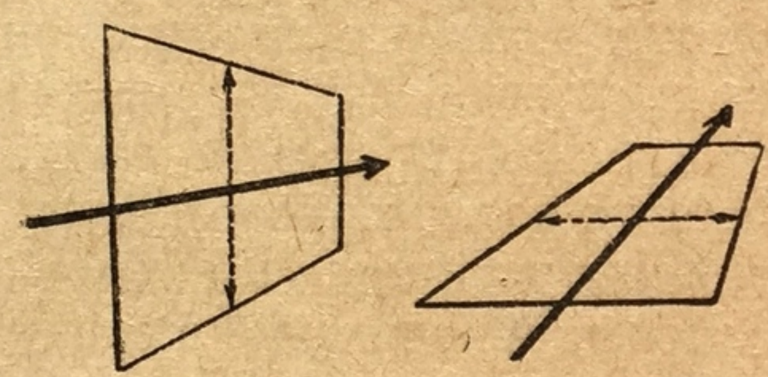


Рис. 8 и 9.

называемый поляризованный свет. На-глаз нельзя заметить какую-либо разницу между этим светом и обыкновенным дневным светом, но различие ясно обнаруживается при пропускании того и другого света через второй кристалл того же исландского шпата. Мы упомянули, что такие кристаллы, как исландский шпат, пропускают лучи, колебания которых совершаются только в одной плоскости, расположенной определенным образом по отношению к оси кристалла; она называется оптической плоскостью кристалла. Поэтому луч поляризованного света проходит через кристалл, если оптическая плоскость этого кристалла совпадает с той плоскостью, в которой происходят колебания поляризованного луча; но последний не может пройти через кристалл в том случае, когда оптическая плоскость кристалла повернута под прямым углом к плоскости колебания света. При промежуточном расположении обеих плоскостей через кристалл проходит бóльшая или меньшая часть света в зависимости от того, совпадают ли они или образуют угол, приближающийся к прямому. Обыкновенный дневной свет, конечно, пройдет через кристалл при любом его положении, так как в нем всегда окажется некоторая часть лучей, колеблющихся в оптической плоскости кристалла.

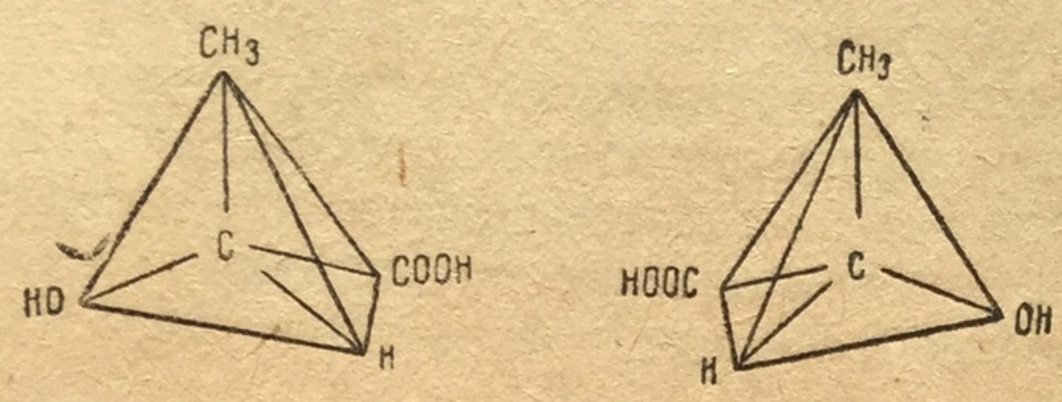
Существует множество веществ, которые обладают способностью вращать плоскость поляризации света, проходящего через их раствор. Другими словами, после прохождения луча поляризованного света через оптически деятельное вещество или его раствор плоскость колебания будет уже иная, чем до вступления поляризованного света в вещество или раствор. Такие вещества называют оптически активными, или говорят, что они вызывают явление оптического вращения. Угол, на который поворачивается плоскость поляризации, зависит от природы вещества, от концентрации его раствора и от толщины слоя раствора, через который прошел поляризованный луч. Предположим, что мы имеем источник света, поляризованного в определенной плоскости, и смотрим на него сквозь кристалл шпата, расположенный таким образом, что оптическая плоскость его совпадает с плоскостью колебаний; при этих условиях прохождение света будет максимальным. Если теперь поместить между источником света и кристаллом слой какого-нибудь оптически деятельного вещества, то плоскость колебания света повернется и не будет уже совпадать с оптической плоскостью второго кристалла. Вследствие этого интенсивность видимого через кристалл света уменьшится. Яркость может быть, однако, восстановлена до прежнего максимума вращением второго кристалла до тех пор, пока его оптическая плоскость не совпадет с новой плоскостью колебаний.

Очевидно, угол, на который понадобится повернуть для этой цели кристалл, в точности равен тому углу, на который оптически деятельное вещество повернуло плоскость поляризации. Пользуясь этим способом, мы можем измерить степень оптической

активности. Оптическая активность вещества определяется как угол, на который отклоняется плоскость поляризации луча при прохождении через 10 см 100% раствора вещества (конечно, наблюдение обычно проводят на более разведенных растворах, а результаты высчитывают арифметически).

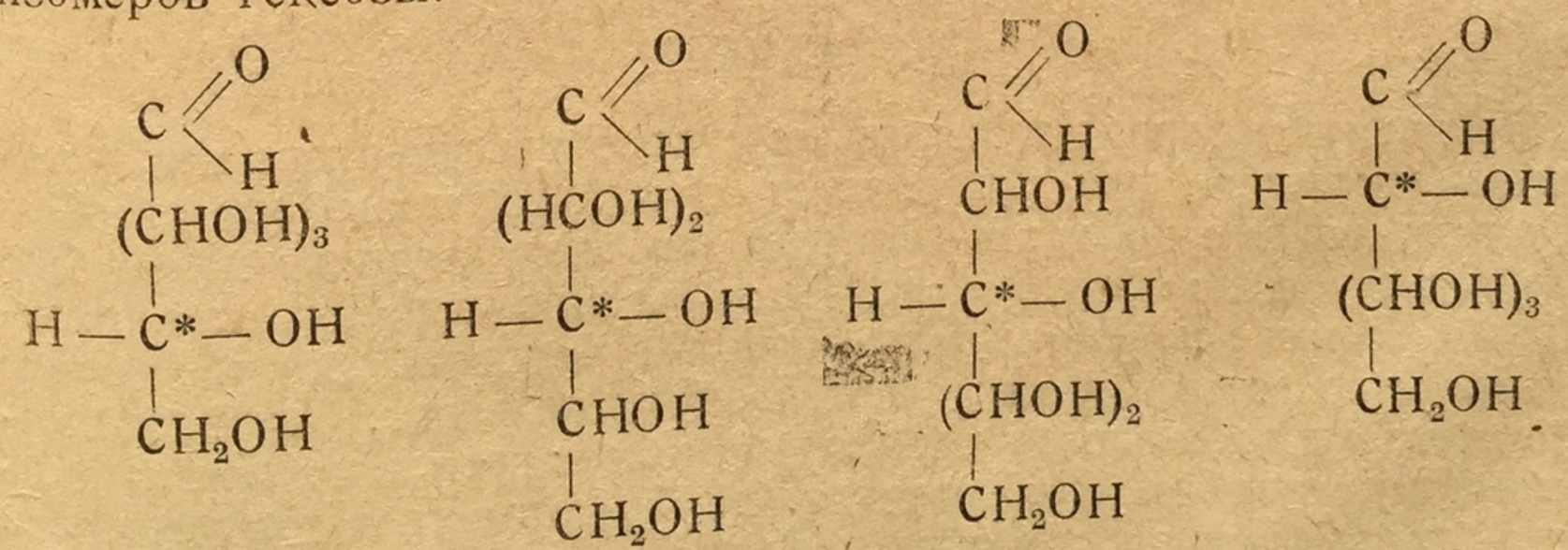
Известно, что каждое оптически активное вещество существует в двух формах: одна из этих форм вращает плоскость поляризации вправо (правовращающая форма), другая—на тот же самый угол влево (левовращающая форма). Так, молочная кислота, нормальная составная часть мышечной ткани, является правовращающей, в то время как молочная кислота, образующаяся при бактериальном расщеплении сахара, вращает влево. Известны подобные же формы l- и d-виннокаменной кислоты и многих других веществ. Вещества, приготовленные в лаборатории синтетически, всегда оптически недеятельны: они состоят из смеси равных количеств обеих оптически активных форм; поэтому правое вращение, обусловленное d-изомером, совершенно точно уравновешивается левым вращением l-изомера. Молочная кислота, полученная из кислого молока, является как раз смесью такого рода. Обе оптически активные формы совершенно тождественны по своим химическим свойствам, но отличаются по растворимости и форме кристаллов. Прекрасным примером этого являются соли виннокаменной кислоты. Пастер в одном из своих ранних исследований показал, что кристаллы натрий-аммониевой соли обычной оптически неактивной винной кислоты могут быть рассортированы на две группы, по внешней форме относящиеся друг к другу, как правая и левая рука: кристаллы одного вида не совмещаются с кристаллами другого, но являются их зеркальным изображением. Кристаллы, таким образом, бывают «правые» и «левые»; они, как говорят, энантиоморфны, если воспользоваться применяемым для этого греческим термином. Оказывается, что если «правые» и «левые» кристаллы растворить отдельно в воде, то один раствор будет вращать плоскость поляризации вправо, а другой—влево. Совершенно очевидно, что оптическая активность обязана известной асимметричности молекулы, которая проявляется не только в этом оптическом эффекте, но и во внешней форме кристаллов. Ближайшее изучение показывает, что асимметричность органической молекулы возникает тогда, когда все четыре валентности углеродного атома, равномерно распределенные в пространстве, замещены различными группами. Атом углерода представляют расположенным в центре правильного тетраэдра с валентностями, направленными в каждый из четырех углов, где располагаются замещающие группы. В том случае, если все четыре группы различны по химической структуре, можно простым изменением расположения любых двух групп получить такую форму, которая никак не может быть совмещена с первоначальной, но является ее зеркальным изображением. Это лучше разобрать на простейшем примере, именно на молочной кислоте $CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH$. Распределив ее группы в трех измерениях пространства, мы можем получить,

меняя расположение групп OH и COOH, две зеркальные формы:



И если попытаться, вращая любым способом одну из форм, совместить ее с другой, то можно было бы легко убедиться, что ни при одном положении их группы в точности не совпадают. Более наглядно это может быть продемонстрировано на маленьких моделях молекулы, сделанных из спичек и кусочков пробки или пластелина. Поскольку в обеих формах молочной кислоты отдельные группы в молекуле остаются одними и теми же, то и химические ее свойства в обоих случаях будут одинаковы, но неодинаковое распределение этих групп в пространстве заставляет нас ожидать некоторых различий в физических свойствах двух форм молочной кислоты. То обстоятельство, что распределение групп в молекуле одной формы является зеркальным изображением другой, хорошо объясняет их противоположное влияние на поляризованный свет. Таким путем мы объясняем существование правовращающих и левовращающих форм кислоты, а также и оптически неактивной кислоты, являющейся смесью равных количеств оптически активных изомеров.

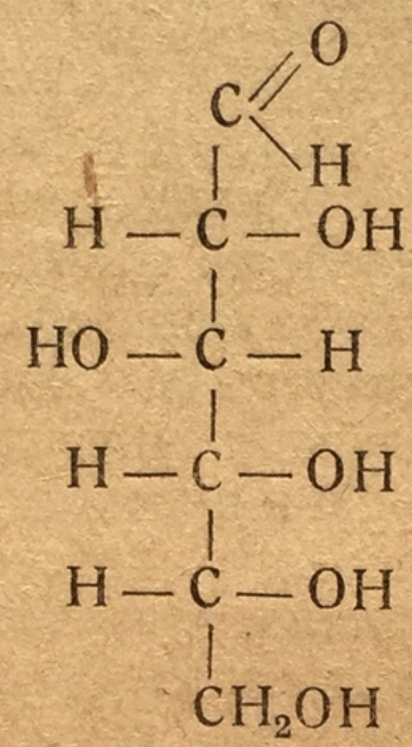
Теперь можно ответить на естественный вопрос читателя — почему мы так подробно разбираем вопрос об оптической активности. Дело в том, что сахара представляют наиболее удобный объект для изучения оптической изомерии по сравнению с любой другой группой веществ. В молекуле самой простой гексозы мы имеем не менее четырех углеродных атомов, к которым присоединены различные группы и каждый из которых, вследствие его асимметричности, обусловливает существование двух оптических изомеров гексозы.



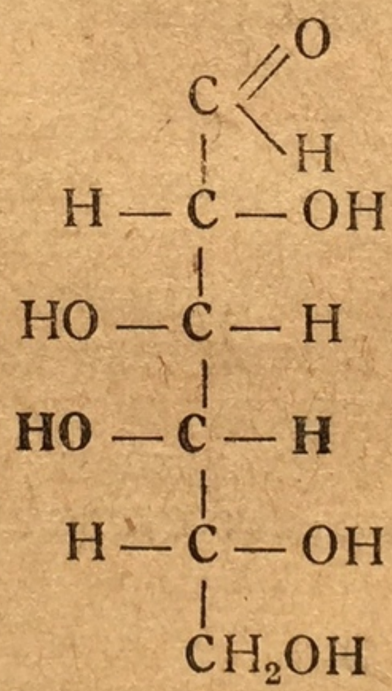
Так как далее распределение групп вокруг какого-либо атома углерода может сочетаться с тем или иным пространственным расположением групп у любого другого атома из оставшихся

трех, то число оптических изомеров простой молекулы гексозы возрастает, доходя до $2 \times 2 \times 2 \times 2 = 16$. Каждый из этих сахаров является своеобразным веществом, и легко себе представить, как много энергии пришлось потратить Эмилю Фишеру на разрешение вопроса о молекулярной структуре всех этих шестнадцати гексоз.

Конечно, из возможных гексоз только одна является глюкозой. Пространственное распределение групп вокруг асимметрических углеродных атомов в ее молекуле соответствует следующей формуле:

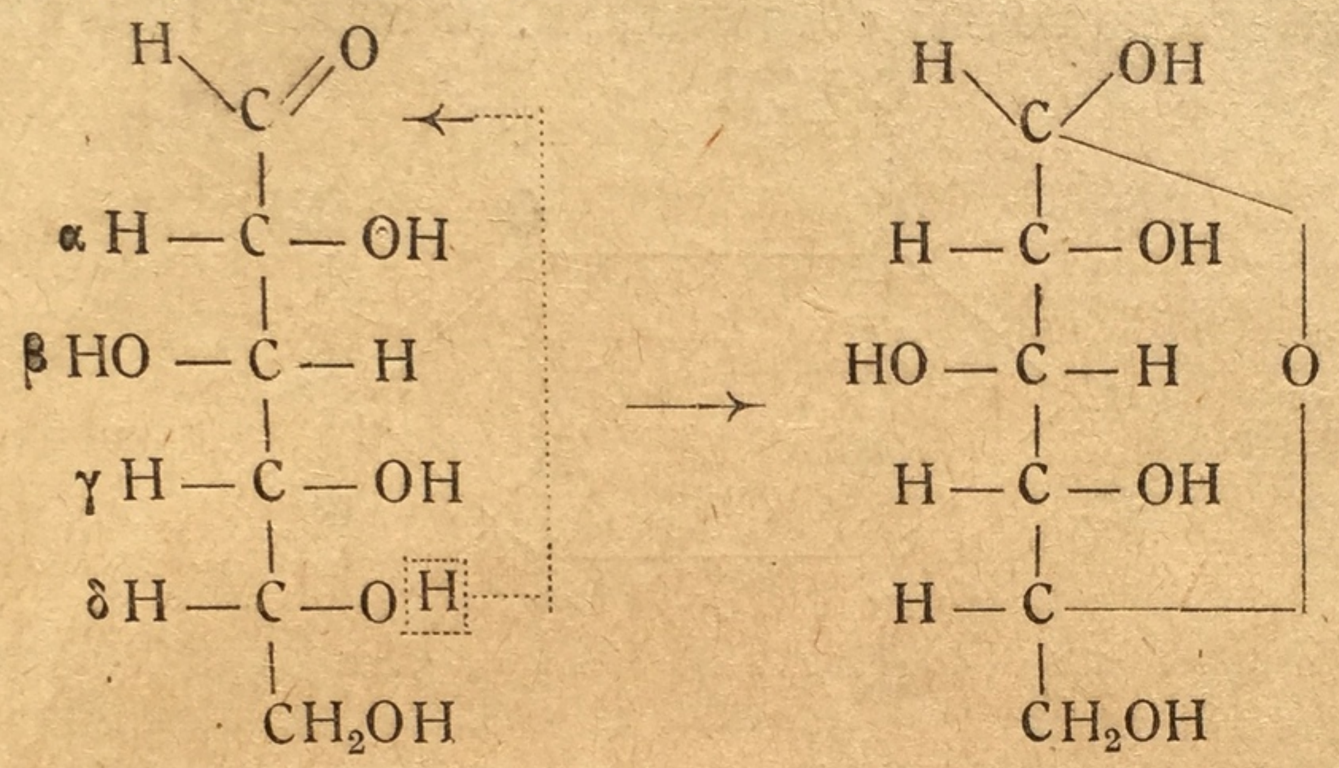


Попутно интересно отметить, что галактоза отличается от глюкозы только одним звеном в цепи углеродных атомов.



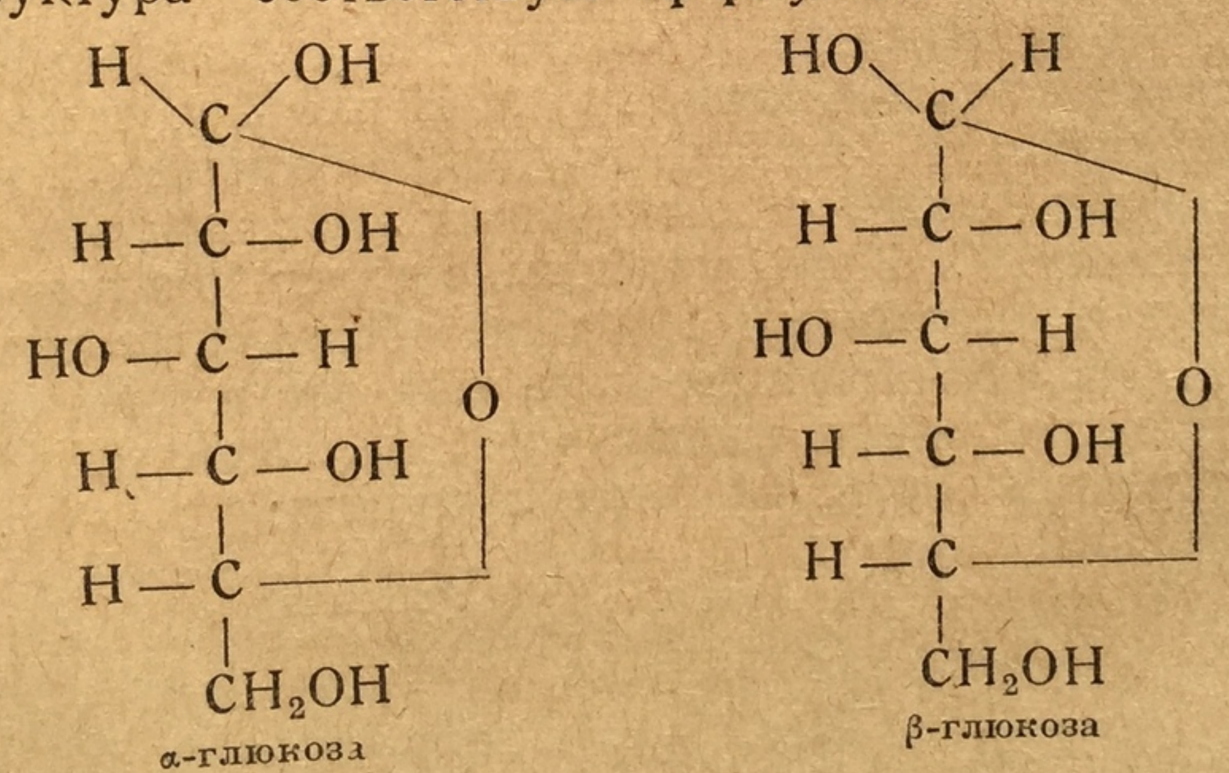
Но хотя мы ознакомились даже с пространственным распределением групп вокруг углеродных атомов глюкозы, мы должны указать, что все же и эта формула еще не объясняет полностью свойств и поведения глюкозы. Если бы глюкоза была полиоксиальдегидом, то можно было бы ожидать, что она будет сильным восстановителем, чего на самом деле нет. Она восстанавливает фелингов раствор, но только при нагревании; она не окисляется кислородом воздуха и т. д. Поэтому предполагают, что альдегидная группа глюкозы является «скрытой», что она маскируется, вступая в реакцию с одной из гидроксильных групп, присоединяет водородный атом гидроксильной группы и образует кольцевую структуру за счет кислородного атома. Возникает

вопрос, с каким из гидроксилов реагирует альдегидная группа. Давно уже предполагали, что это гидроксил, находящийся в γ-положении, но это было только предположением; теперь в результате сложных, изумительных по тонкости исследований доказано, что кислородный мостик соединяет альдегидную группу с δ-углеродным атомом. Мы, таким образом, получаем следующую современную формулу глюкозы:



Легко заметить, что в новой формуле альдегидный углеродный атом становится асимметричным: к нему присоединены четыре различные группы. В результате этого возникает возможность двух новых оптических изомеров глюкозы, которые обладают различным оптическим вращением. И в самом деле такие две формы глюкозы известны, и их существование является весьма веским доказательством в пользу только что приведенной формулы глюкозы. Эти две формы глюкозы обе вращают вправо, но одна в большей степени, чем другая; они обозначаются как α- и β-глюкозы.

Их структура соответствует формулам:

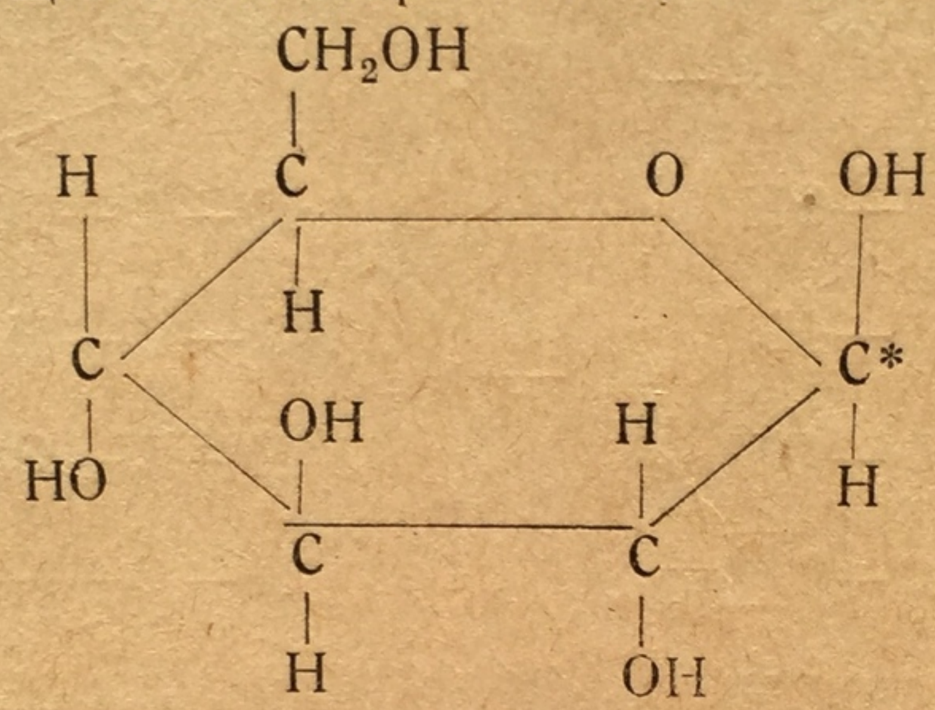


α-глюкоза β-глюкоза

отличающимся лишь пространственным расположением самых верхних атомов цепи. Обычная глюкоза, по крайней мере в растворе, является смесью этих двух форм.

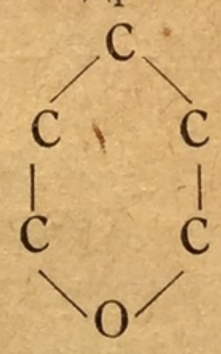
В приведенных формулах мы изобразили кислородный мостик находящимся как бы в плоскости главной углеродной цепи. Это

было сделано для того, чтобы показать взаимоотношение старой и новой формулы глюкозы. Но все, что нам известно о циклических структурах, приводит нас к мысли, что отдельные звенья молекулы глюкозы, состоящие из одного кислородного и пяти углеродных атомов, расположены не в виде прямой цепи, как мы вначале изображали, но в виде настоящей циклической структуры. Это заключение меняет все пропорции формулы и заставляет изобразить ее в следующем более современном, но мало привычном виде:

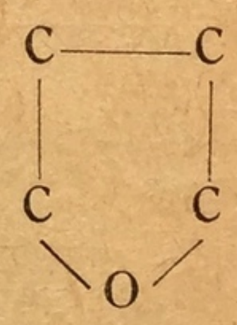


Но этим еще не исчерпывается то, что мы должны сказать относительно глюкозы. Хорошо известно, что существует еще одна модификация глюкозы, по крайней мере в виде метильных дериватов, которая обладает столь высокой активностью, что восстанавливает фелингову жидкость даже на холоду. Эта активная форма глюкозы была обозначена как γ-глюкоза. Теперь, когда ее строение изучено, известно, что она отличается от обычной глюкозы тем, что кислородный мостик в ней расположен между альдегидным углеродом и γ-углеродным атомом. Удачным совпадением оказался тот факт, что γ-глюкоза оказалась настоящим γ-соединением, хотя вначале ее название было чисто условным.

Отметим, что буквами α и β в формулах углеводов обозначают пространственное расположение групп H и OH у углерода прежней альдегидной или кетонной группы; обозначение же γ или δ указывает на расположение кислородного мостика; это может повести к неясностям. Более удобным следует поэтому признать предложенное в настоящее время иное обозначение циклических форм углеводов, основывающееся на том, что в этих формах мы имеем то же расположение атомов в кольце, какое имеется в двух гетероциклических ядрах—фурана и пирана:



пиран

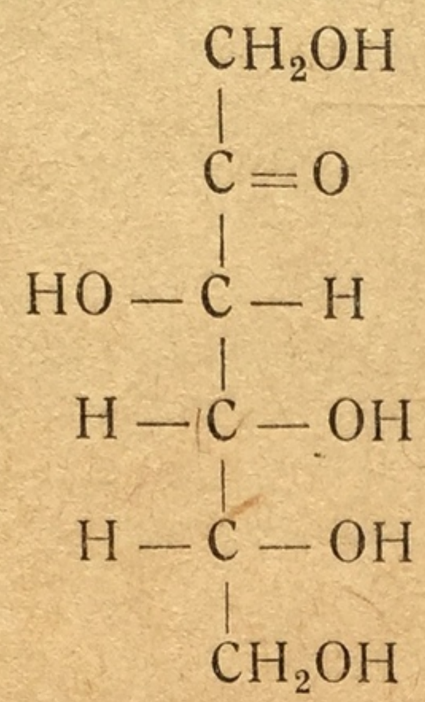


фуран

Соответственно этому углеводы с шестичленным циклом (например, обычную δ-глюкозу) обозначают как пиранозы,

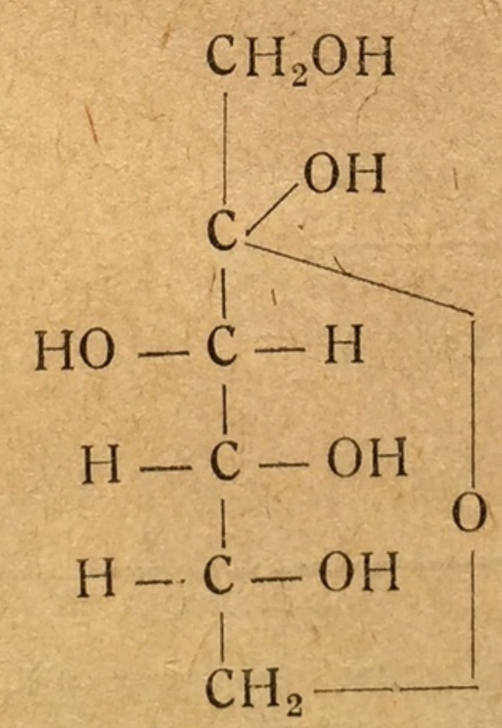
а активные формы (вроде упомянутой γ-глюкозы)—как фуранозы.

Переходя теперь к строению фруктозы, необходимо сказать, что для этого сахара давно уже была установлена кетонная природа; ему должно быть приписано следующее строение:



фруктоза

Другими словами, молекулы фруктозы и глюкозы отличаются только своими конечными группами. Поскольку эта разница уничтожается при образовании озазонов, неудивительно, что озазоны глюкозы и фруктозы одинаковы. Позже будет показано, что пространственное расположение групп CHOH в молекуле фруктозы аналогично таковому в глюкозе. Теперь доказано также, что кетонная группа фруктозы не свободна, так как она участвует в образовании кислородного мостика с углеродным атомом в δ-положении, который является последним в общей цепи атомов:

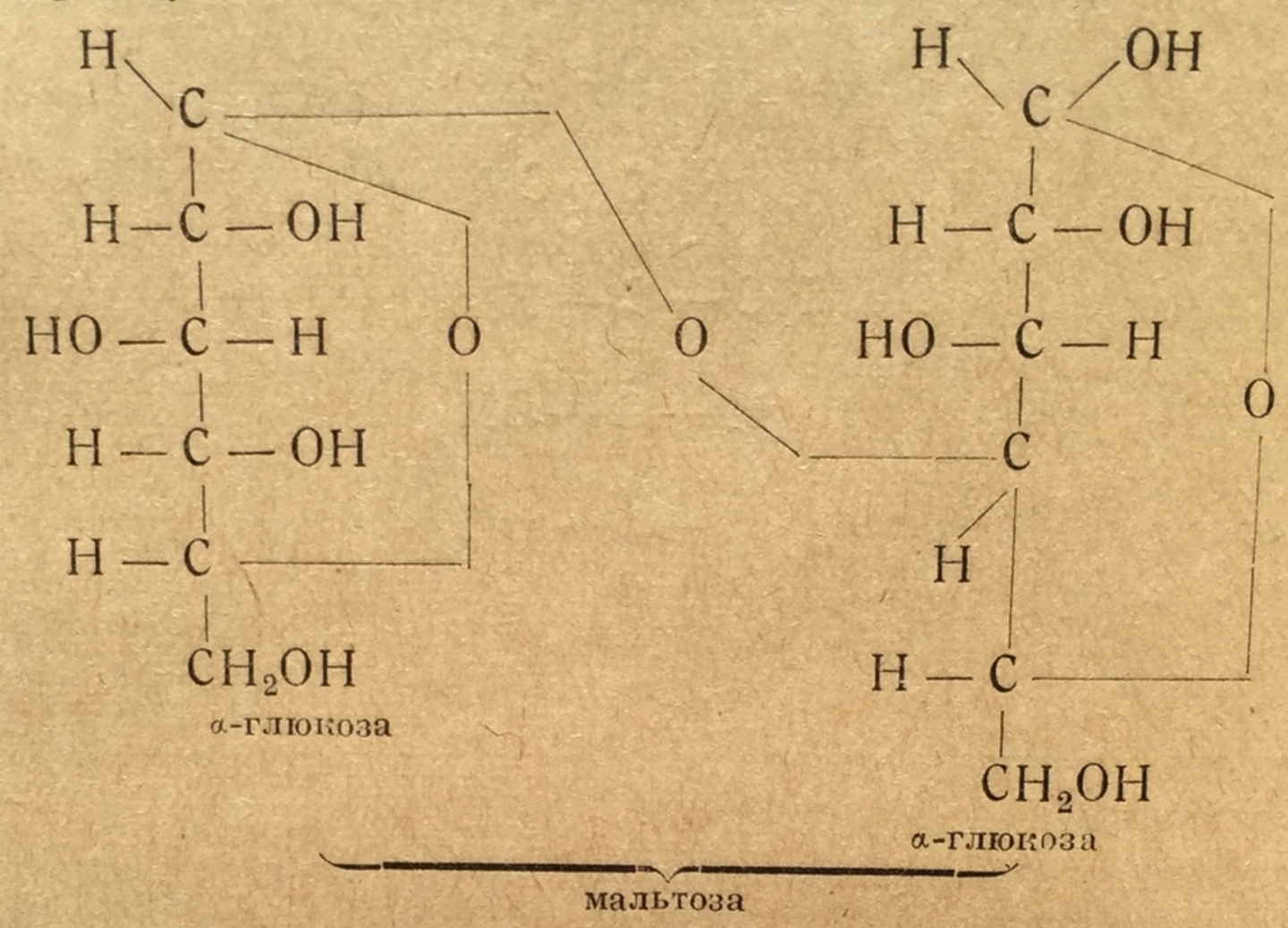


фруктоза

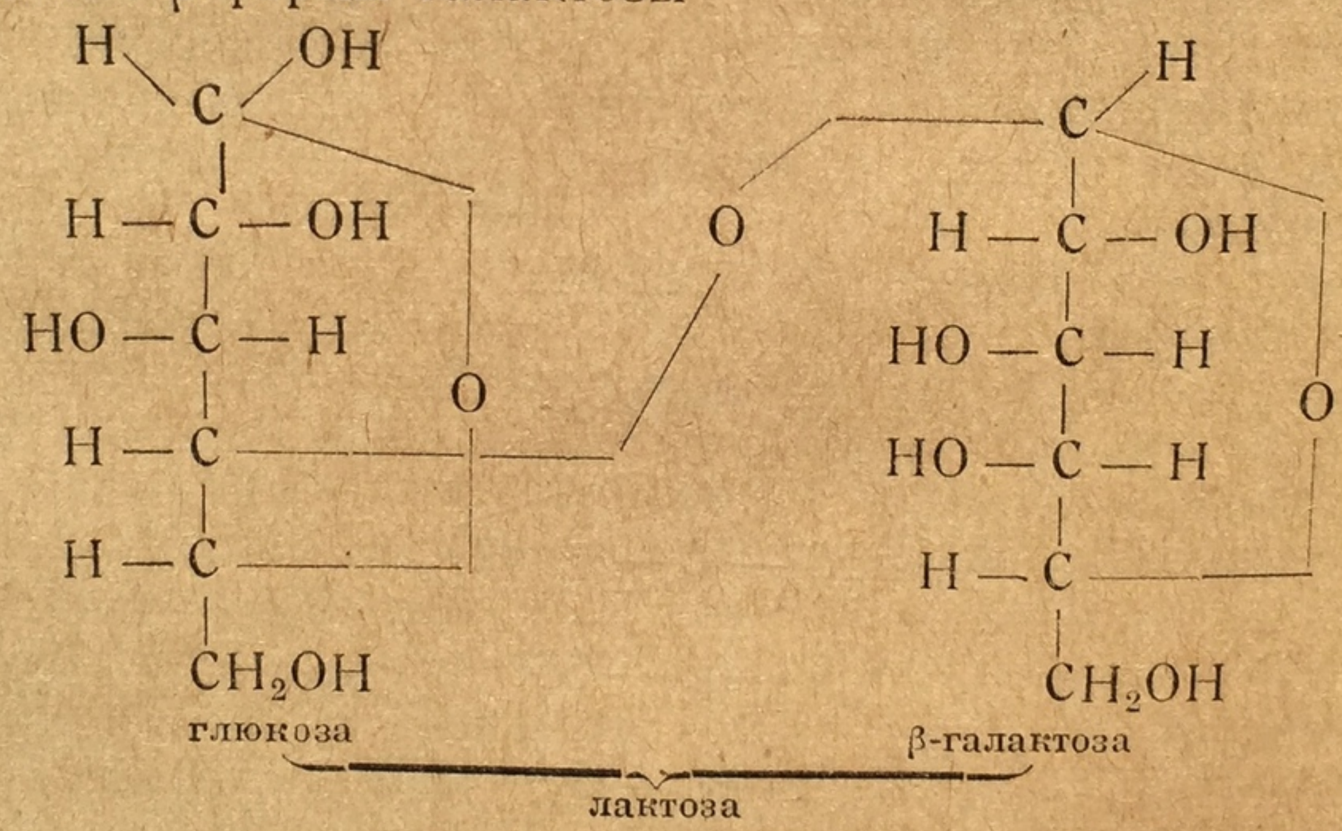
Таким образом, обычная фруктоза, подобно глюкозе, содержит шестичленное кольцо, в состав которого входит кислород.

Переходим к рассмотрению структуры дисахаридов. Исходя из того, что мальтоза и лактоза обе редуцируют фелингову жидкость, но сравнительно слабо, следует думать, что связь в этих сахарах происходит за счет скрытой альдегидной группы одного моносахарида, оставляя альдегидную группировку другого свободной. Оставшаяся свободной альдегидная группа и обусловли-

вает редуцирующие свойства мальтозы и лактозы и их способность давать озазоны. В случае мальтозы известно, что глюкоза, альдегидная группа которой участвует в образовании связи, имеет α-конфигурацию. Это и другие соображения приводят нас к такой формуле мальтозы:

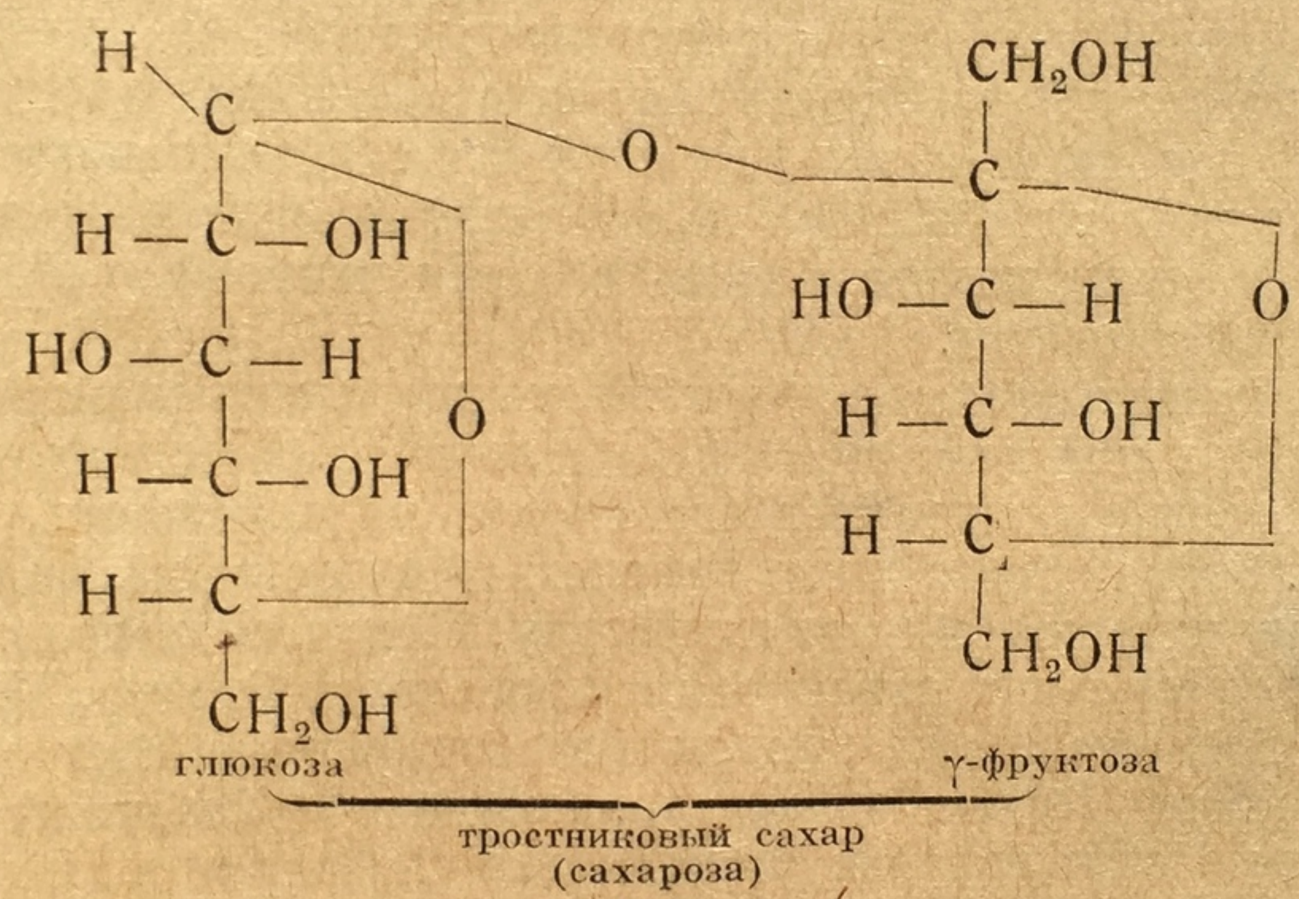


Подобным же образом было показано, что лактоза является соединением β-формы галактозы



В противоположность этим редуцирующим дисахаридам тростниковый сахар не редуцирует и не образует озазонов. Этот факт получает удовлетворительное объяснение, если предположить, что альдегидная группа глюкозы и кетонная группа фруктозы, образующие кислородные мостики, участвуют в образовании связи между двумя моносахаридными компонентами тростникового сахара. Вследствие этого кольцо не может раскрыться, и специфические свойства кетонной и альдегидной группы ничем не проявляются. В лактозе и мальтозе (это следует особенно запомнить) одна из редуцирующих групп не участвует в образовании связи.

Но этим не кончаются интересные особенности строения молекулы тростникового сахара. Недавно (в 1928 г.) тростниковый сахар был синтезирован; при этом оказалось, что для синтеза необходимо брать фруктозу в γ-форме (фуранозной), которая аналогична по структуре γ-глюкозе и содержит пятичленное кольцо. Фруктоза в качестве компонента молекулы тростникового сахара является активной или γ-фруктозой, но, гидролизуя тростниковый сахар, мы всегда получаем неактивную δ-форму (пиранозную). Отсюда следует, что γ-фруктоза при гидролизе тотчас же подвергается интрамолекулярному превращению, переходя в неактивную шестичленную циклическую структуру. На основании установленных фактов тростниковому сахару следует приписать следующую формулу:



В полисахаридах мы имеем вещества, глубоко отличные по всем основным свойствам от сахаров. Вместо относительно простых веществ, легко растворяющихся и кристаллизующихся, мы имеем в полисахаридах субстанции высокого молекулярного веса, нерастворимые в воде или образующие коллоидальные растворы и состоящие из огромного числа молекул моносахаридов, соединенных в длинные цепи.

Обычный растительный крахмал состоит из молекул глюкозы, притом в виде α-формы, в то время как целлюлоза, образующая стенки растительных клеток, отличается от крахмала тем, что состоит из остатков β-глюкозы. Из этих двух полисахаридов крахмал для нас гораздо важнее. В растительных клетках крахмал содержится в виде зерен, состоящих из концентрически расположенных слоев. Вид крахмальных зерен характерен для того рода растений, из которого крахмал получен. Холодная вода не оказывает никакого действия на крахмальные зерна, но в горячей воде они разбухают и затем дают коллоидальный раствор, известный как крахмальный клейстер. Это имеет практическое значение и для лаборатории. При анализе крахмал может быть отделен от растворимых веществ путем промывания холодной водой, в то время как применение горячей воды ведет к образованию клейстера.

Если требуется приготовить хороший клейстер, то крахмальные зерна взвешиваются в небольшом количестве холодной воды и суспензию выливают в надлежащее количество кипящей воды. Крахмальные зерна при этом не слипаются в комки, но разбухают каждое отдельно и хорошо растворяются. Растворы крахмала имеют свойства настоящих коллоидов, в частности, они осаждаются солями; например, крахмал высаливается полностью при прибавлении равного объема насыщенного раствора сернокислого аммония. Обычной качественной реакцией на крахмал служит хорошо известное темносинее окрашивание, которое дают его растворы с иодом. При нагревании это окрашивание исчезает, но восстанавливается вновь при охлаждении, если предшествующее нагревание не было слишком длительным. При нагревании крахмала с концентрированной кислотой происходит гидролиз его, причем сначала образуются более простые, но еще коллоидальные вещества, известные под названием декстринов, окрашиваемые иодом в красный или желтый цвет, а затем молекулы мальтозы. В условиях опыта мальтоза расщепляется далее на составляющие ее молекулы глюкозы.

Переваривание крахмала в организме идет очень сложным путем. На крахмал пищи действует прежде всего энзим слюны—птиалин, который расщепляет его сперва на декстрины, затем на мальтозу. Этот процесс легко проследить в пробирке, если прибавить слюну к крахмальному клейстеру. При легком подогревании пробирки со смесью переваривание происходит быстро. Производя время от времени пробы с иодом в небольших порциях перевариваемого крахмального клейстера, можно убедиться, что характерное синее окрашивание с иодом все слабеет и слабеет; когда переваривание достигает стадии более сложных декстринов, окраска с иодом становится красной, затем получается желтая окраска, а в конце, когда остаются только простые декстрины и мальтоза, пробы не дают окрашивания.

Во рту, даже при тщательном разжевывании пищи, происходит только смешивание крахмала со слюной. Птиалиновое переваривание здесь только начинается и протекает главным образом после того, как пища поступает в желудок. Из этого не следует делать заключение, что птиалин действует в кислой среде. Кислотность желудочного сока достаточна для разрушения этого фермента. Но кислота настолько медленно диффундирует в пищевой комок, что в центре проглоченной массы птиалин остается активным еще через полчаса после приема пищи.

Следует отметить, что птиалиновое переваривание крахмала останавливается на стадии образования мальтозы, которая уже недоступна гидролизующему действию фермента. Крахмал, не успевший перевариться под влиянием птиалина, подвергается действию следующего амилолитического фермента—амилазы, содержащейся в панкреатическом соке. Амилаза тоже расщепляет крахмал до стадии мальтозы. Но в панкреатическом, а также и в кишечном соке содержатся и другие ферменты, прежде всего

мальтаза, которая гидролизует мальтозу на две молекулы глюкозы; последняя поэтому является конечным продуктом переваривания принятого с пищей крахмала. Там же имеется и лактаза, которая гидролизует лактозу на глюкозу и галактозу и, наконец, инвертаза, расщепляющая тростниковый сахар на глюкозу и фруктозу. Название «инвертаза» происходит от того, что смесь глюкозы и фруктозы, образующаяся при гидролизе правовращающего тростникового сахара, в отличие от последнего вращает плоскость поляризации влево; это обусловлено тем, что левулоза обладает более сильным вращением влево, чем правое вращение, обусловливаемое той же концентрацией глюкозы. Знак вращения раствора тростникового сахара вследствие этого при гидролизе «инвертируется»—переходит в противоположный.

Нацело переваренные углеводы всасываются в кровяное русло в виде моносахаридов. Изучение процессов переваривания углеводов лишний раз подтверждает то правило, что пищеварение имеет двоякое значение: оно не только превращает пищевые вещества в растворимые, способные к диффузии соединения, которые могут подвергнуться всасыванию из пищеварительного канала и быть доставлены к тканям, но и переводит их в такую форму, в виде которой пищевые вещества могут быть усвоены и использованы клетками. Так, например, тростниковый сахар как таковой для тканей бесполезен: ткани не содержат фермента, способного гидролизировать этот дисахарид. При впрыскивании тростникового сахара в кровь он циркулирует в ней как инородное вещество и выделяется почками. Глюкоза растворяется и диффундирует не легче, чем тростниковый сахар, но она способна легко усваиваться. Поэтому поступающая в кровь глюкоза, как правило, подвергается в организме окислению и в моче не появляется. Расщепление молекулы дисахарида на усвояемые моносахариды имеет не менее важное значение для организма, чем расщепление самого сложного белкового вещества на образующие его аминокислоты.

ГЛАВА X

ПОТРЕБЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ. ХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

Мы только что видели, что углеводы пищи расщепляются в пищеварительном канале на моносахариды и в таком виде всасываются в кровяное русло. Переходя к изучению роли этих веществ в организме, мы должны указать, что они находят себе применение главным образом в качестве горючего материала. Это вытекает из непосредственного наблюдения, показывающего, что во время деятельности мышцы содержащийся в ней запас углеводов уменьшается. Поэтому нам при рассмотрении углеводного обмена придется говорить преимущественно о том, каким путем происходит

окисление этих веществ, дающее в конечном счете углекислоту и воду и сопровождающееся освобождением энергии частью в виде теплоты, частью в виде механической энергии движения.

Организм млекопитающих обладает способностью откладывать прозапас избыток вводимого с пищей углеводного материала. В этом смысле организм относится к углеводам так же, как и к жирам, которые, как было указано выше, легко откладываются в тканях, в то время как избыток белкового азота при обычных условиях не может быть удержан организмом.

Образующиеся при расщеплении более сложных углеводов моносахариды, всосавшись из кишечника, доставляются кровью воротной вены в печень. Здесь образуются значительные углеводные запасы: молекулы моносахаридов конденсируются, превращаясь в полисахарид—г л и к о г е н, или животный крахмал, отлагающийся в печеночных клетках в виде зерен. Гликоген представляет собой белое, аморфное вещество, которое растворяется в горячей воде, давая опалесцирующий коллоидальный раствор. Он отличается от растительного крахмала тем, что в присутствии иода дает красное окрашивание и высаливается только высокими концентрациями солей, практически достигающими полного насыщения; при гидролизе кислотой он, подобно растительному крахмалу, расщепляется целиком на молекулы глюкозы, а птиалин переваривает его до мальтозы.

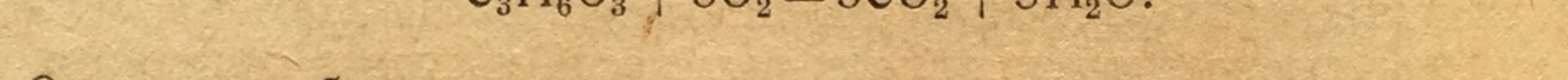
Интересно заметить, что не только глюкоза, но и фруктоза и галактоза, всосавшиеся из пищеварительного канала, превращаются в гликоген, ничем не отличающийся от гликогена, получающегося из глюкозы; при гидролизе он дает только глюкозу, но никак не первоначальные моносахариды, из которых он произошел. Очевидно, организм обладает способностью превращать одни моносахариды в другие; он легко превращает фруктозу в глюкозу и без труда осуществляет внутримолекулярные перемещения, необходимые для образования глюкозы из галактозы, что в лабораторных условиях является отнюдь не легкой задачей. Обратное превращение глюкозы в галактозу происходит при образовании молочного сахара в лактирующей железе. Мы напомним также, что гликоген образуется из многих аминокислот.

Гликоген откладывается в печени как типичный резервный продукт, коллоидальный и недиффундирующий. Когда концентрация глюкозы в крови падает ниже обычного нормального уровня, например, во время голодания или интенсивного потребления сахара, гликоген превращается в глюкозу, которая поступает в ток крови и доставляется нуждающимся в ней органам. Этот гидролиз является не просто результатом нарушения физико-химического равновесия между гликогеном и глюкозой, но, как мы убедимся позже, находится под контролем нервной системы. Глюкоза поступает в мышцы, где она, превратившись снова в гликоген, играет важную роль в механизме мышечного сокращения. Обычно мышцы содержат в общей массе столько же гликогена, сколько и печень.

Большой интерес в обмене углеводов представляет их роль как источника энергии мышечного сокращения. Общеизвестно, что энергия мышечного сокращения в конечном итоге образуется за счет окисления резервных углеводов кислородом, доставленным мышце кровью. Но чем глубже изучался этот вопрос, тем все более и более сложным оказывался процесс использования энергии мышцей и тем меньше сходства оставалось в нем с прямым сжиганием топлива, которое применяется для получения энергии в машинах. Давно известно, что мышца при раздражении может сокращаться в атмосфере, лишенной кислорода, например, в атмосфере азота. Сначала это объясняли тем, что энергия, необходимая для сокращения в этих условиях, по существу одинакова с энергией прямого окисления углеводов, но с той разницей, что, поскольку извне кислорода не поступает, он заимствуется из состава тех сложных молекул, часть которых составляет и горючий материал. Этот процесс представляли так: когда мышца сокращается, то горючий материал окисляется за счет резервов внутримолекулярного кислорода и дает необходимую для сокращения энергию. Согласно этой теории, следовало ожидать, что при мышечном сокращении в атмосфере азота из мышцы будет выделяться угольный ангидрид. Но еще со времен Гельмгольца известно, что мышца при сокращении становится кислой и что в ней образуется кислота, идентичная с правовращающей молочной кислотой, впервые выделенной из мышечной ткани Либихом. Этой относительно сильной кислоты вполне достаточно, чтобы освободить угольный ангидрид из карбонатов, предсуществующих в мышце до сокращения. Таким образом, процесс сокращения не обязательно сопровождается новообразованием углекислоты и может протекать без одновременного окисления горючих материалов.

Чем энергичнее сокращение мышцы, тем больше молочной кислоты она образует. Если мышцу подвергать нагреванию до тех пор, пока она не придет в состояние окоченения, то она сокращается до максимума, и при этом образуется максимальное количество молочной кислоты. Несомненно поэтому, что образование молочной кислоты в анаэробных условиях является существенным звеном в сложной цепи изменений, которые составляют процесс мышечного сокращения. Непосредственный химический анализ мышцы до и после сокращения показывает, что молочная кислота образуется из гликогена, так как по мере образования молочной кислоты содержание гликогена в мышце уменьшается. Теперь понятно значение присутствия в мышце столь значительных запасов гликогена, на что мы уже обращали внимание читателя. Если сокращения мышцы происходят в анаэробных условиях (в отсутствии кислорода), то образовавшаяся молочная кислота не исчезает; при этом, если сокращения повторяются, то возникают все новые и новые количества молочной кислоты, которые прибавляются к прежним. Таким путем происходит постепенное накопление молочной кислоты, пока мышца не утомится и не перестанет реагировать на раздражения. Если теперь утомленную мышцу переместить

в атмосферу кислорода, то явления утомления быстро исчезают, и мышца восстанавливает свою способность сокращаться в ответ на раздражение. Но в то же самое время исчезает и молочная кислота, выделяется значительное количество угольного ангидрида и заметное количество тепла. Очевидно, что в этих условиях происходит процесс окисления. Прямые химические наблюдения над утомленной мышцей, помещенной в атмосферу кислорода, показали, что в этой стадии восстановления происходит окисление некоторой части (около одной пятой) общего количества образовавшейся молочной кислоты. При этом процессе окисления объем выделенного мышцей угольного ангидрида равен объему потребленного кислорода, что́ и следовало ожидать в случае сгорания молочной кислоты или углевода по уравнению:



$$C_3H_6O_3 + 3O_2 = 3CO_2 + 3H_2O.$$

Остальная, более значительная часть молочной кислоты, несомненно, превращается обратно в гликоген, так как выдерживание утомленной мышцы в кислороде приводит к ресинтезу такого количества гликогена, которое эквивалентно $^4/_5$ исчезнувшей молочной кислоты. Молочная кислота скорее играет роль части машины, но не топливного материала: она образуется из гликогена во время сокращения и ресинтезируется обратно в гликоген в периоде восстановления. Количество ресинтезированного гликогена достигает тем не менее только $^4/_5$ его общего количества, подвергшегося распаду во время сокращения. Оставшаяся $^1/_5$ через молочную кислоту превращается в углекислый газ и воду, и в конечном счете гликоген оказывается тем резервом энергии, за счет которого совершается работа мышцы. Энергия, освобождающаяся при окислении молекулы молочной кислоты в угольный ангидрид и воду, в несколько раз больше той энергии, которая возникает при образовании той же молекулы молочной кислоты из гликогена. Поэтому полного окисления лишь небольшой части молочной кислоты, образовавшейся при сокращении мышцы, бывает достаточно для превращения остальной ее части обратно в гликоген.

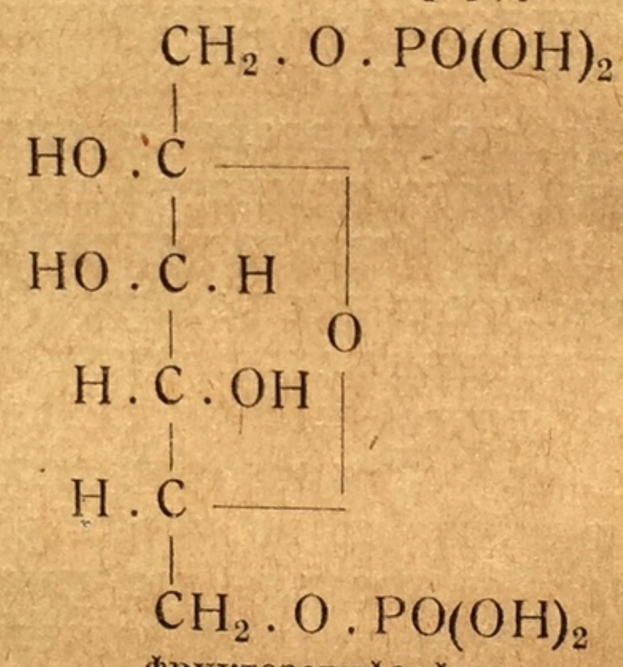
Отсюда ясно, что окисление, которое служит основным источником энергии мышцы, наступает п о с л е каждого сокращения и является подготовкой для нового. Мышца и в покоящемся состоянии находится в постоянной готовности к работе и освобождает энергию тотчас, без окисления, как только весь механизм приводится в действие нервным импульсом. Для возмещения потраченной энергии необходимо окисление горючего материала. Мышцы, таким образом, резко отличаются от паровой машины или двигателя внутреннего сгорания. У таких машин окисление топлива и освобождение энергии происходят одновременно; они нуждаются в кислороде во время работы. Мышце же кислород необходим п о с л е работы для того, чтобы подготовить ее к последующей деятельности. Мышца более похожа на электри-

ческий аккумулятор, энергетические резервы которого также накоплены в форме химической энергии. Посредством мотора химическая энергия аккумулятора превращается в механическую работу, даже в отсутствии кислорода; но процессы окисления все-таки необходимы потом для зарядки аккумулятора, так как для этого нужна электрическая энергия, а последняя доставляется динамомашиной, приводимой в движение паровым двигателем. Легко убедиться, что подобный тип деятельности свойственен не только изолированной мышце лягушки, на которой главным образом изучались все эти явления, но и организму человека в целом, поскольку это касается мышечной деятельности. Было установлено, что в начальных стадиях мышечной работы потребление кислорода через легкие растет лишь очень медленно и только постепенно достигает своих максимальных величин; следовательно, существует период, когда организм получает кислорода меньше, чем это можно было ожидать по проделанной им работе. В этот период энергия вырабатывается за счет анаэробного процесса распада гликогена в молочную кислоту, и организм вступает в состояние «кислородной задолженности». Когда работа закончена, то потребление кислорода не возвращается сразу к уровню покойного состояния, но некоторое время наблюдается более интенсивное потребление, пока «кислородная задолженность», возникшая в начале работы, не будет покрыта. Поскольку повышенное потребление кислорода в период отдыха («избыточный» кислород) используется для окисления одной части накопившейся молочной кислоты и ресинтеза другой части в гликоген, то по кислородной задолженности можно составить известное представление об общем количестве накопившейся во время работы молочной кислоты. Таким путем было установлено, что у некоторых спортсменов в результате напряженной мышечной деятельности в организме накапливается до 100 г молочной кислоты. Определение количества накопившейся молочной кислоты (точнее говоря—образовавшейся кислородной задолженности) в состоянии утомления можно использовать для сравнения выносливости спортсменов. Так как при этих условиях накопляется молочная кислота, то очевидно, что человек получает здесь энергию таким образом, что гликоген превращается в молочную кислоту более быстрым темпом, чем кислород из легких доставляется мышце для окисления молочной кислоты. Поэтому интенсивность мышечной деятельности в начальных стадиях работы, когда она происходит за счет кислородной задолженности, значительно выше, чем в последующий период, когда уже достигнут предел накопления молочной кислоты и ее необходимо окислять с той скоростью, с какой она образуется. Это подтверждается тем, что средняя скорость бега на 50 ярдов (который происходит исключительно за счет образования кислородной задолженности) значительно выше скорости бега на расстояние $^1/_4$ мили, когда скорость бегуна больше зависит от дыхательной и циркуляторной доставки кислорода. И, действительно, изучение мировых рекордов по бегу показывает, что средняя ско-

рость остается постоянной до 100 ярдов, а затем прогрессивно падает по мере удлинения дистанции.

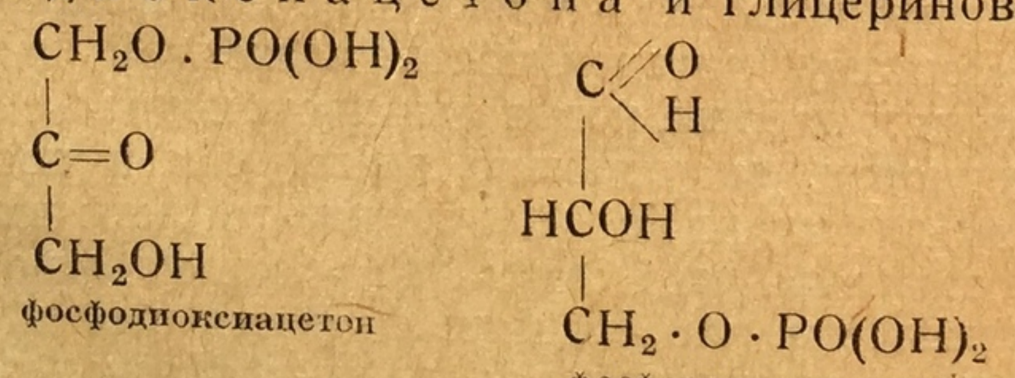
Но вернемся снова к деталям химических изменений, совершающихся в процессе деятельности изолированной мышцы. Не трудно понять, что то, что мы обозначаем общим термином «распад гликогена в молочную кислоту», на самом деле является слишком сложным процессом, чтобы происходить одним приемом,—он протекает в виде многих последовательных фаз.

Было установлено, что при сбраживании глюкозы дрожжами первая стадия ее превращений состоит в образовании эфира глюкозы с фосфорной кислотой. Позже было найдено, что такой же гексозофосфат существует и в мышце, составляя там исходное вещество для образования молочной кислоты (отсюда название этого эфира—лактацидоген). В настоящее время известно, что гексозофосфат мышцы является не единым веществом, а равновесной смесью нескольких фосфорных эфиров моносахаридов. Наиболее интересным из них является эфир фруктозы с двумя молекулами фосфорной кислоты—фруктозодифосфат.



фруктозодифосфат

Очевидно, первой ступенью превращений гликогена является его гидролиз в глюкозу, затем фосфорилирование и превращение в дериват фруктозы. Фруктозодифосфат распадается пополам, каждая половина его образует трехуглеродную цепь с одним остатком фосфорной кислоты. После ряда исследований было установлено, что эти две молекулы являются фосфорными эфирами триоз: диоксиацетона и глицеринового альдегида:



фосфодиоксиацетон

фосфоглицериновый альдегид

Две молекулы образовавшихся фосфотриоз под действием энзимов мышцы путем обмена атомами водорода дают одну молекулу фосфорного эфира глицерина (глицеринофос-

форная кислота или фосфоглицерин) и молекулу фосфоглицериновой кислоты, фосфорного эфира глицериновой кислоты, продукта окисления глицерина.

$$\begin{array}{l} CH_2O\,.\,PO(OH)_2 \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} \qquad\qquad \begin{array}{l} CH_2O\,.\,PO(OH)_2 \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array}$$

фосфоглицерин — фосфоглицериновая кислота

Затем, после предварительного перемещения фосфорного остатка, фосфоглицериновая кислота превращается в фосфопировиноградную кислоту (фосфорный эфир энольной формы пировиноградной кислоты).

$$\begin{array}{l} CH_2 \\ \| \\ C\,.\,O\cdot PO(OH)_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

фосфопировиноградная кислота

Фосфорная кислота вслед за этим отщепляется, и остается пировиноградная кислота. Из пировиноградной кислоты образуется молочная кислота путем ее восстановления либо фосфоглицерином, который при этом окисляется в фосфотриозу, либо новой молекулой фосфотриозы, которая окисляется в фосфо-глицериновую кислоту; образовавшиеся продукты окисления снова вступают в ту же цепь описанных выше реакций.

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array}$$

пировиноградная кислота — молочная кислота

Уместно напомнить, что современные представления об образовании молочной кислоты в мышце отличаются коренным образом от теорий еще совсем недавних лет. Раньше предполагали, что непосредственным предшественником молочной кислоты является не пировиноградная кислота, а метилглиоксаль. Это представление основывалось на том, что в мышце (и в большинстве других тканей) содержится фермент, под влиянием которого из метилглиоксаля быстро образуется молочная кислота. Формула глиоксаля $\begin{array}{l} CHO \\ | \\ CHO \end{array}$, отношение его метильного деривата к молочной кислоте ясно из сопоставления их формул:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ CHO \end{array} \qquad\qquad \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array}$$

метилглиоксаль — молочная кислота

Однако мы знаем теперь, что мышечный сок может превращать углеводы в молочную кислоту и в таких условиях, когда фермент глиоксалаза неактивен. Впрочем, некоторые исследователи все же допускают, что глиоксалаза не остается полностью вне процессов обмена мышцы и что по крайней мере часть молочной кислоты образуется из метилглиоксаля при ее участии. Они основываются на том, что в некоторых условиях молочная кислота в мышечной ткани образуется из фруктозодифосфата быстрее, чем из эквивалентного количества пировиноградной кислоты.

В кратком очерке невозможно описать все блестящие биохимические исследования, приведшие к разъяснению той сложной цепи реакций, которая имеет место при распаде углеводов в мышце. Мы еще далеко не изложили всего относящегося к химизму мышечного обмена. Когда интерес исследователей сосредоточился на различных фосфорных соединениях в мышце и на их точном определении в разных условиях, в Англии и Америке одновременно было открыто в мышечном экстракте новое фосфорное соединение. Оно отличалось крайней неустойчивостью, так что уже во время его определения оно постепенно распадалось, образуя неорганический фосфат. Этот ф о с ф а г е н, как первоначально назвали новую субстанцию, оказался соединением креатина и фосфорной кислоты—креатинофосфорной кислотой, или ф о с ф о к р е а т и н о м. Фосфокреатина в утомленной мышце содержится меньше, чем в свежей, и это естественно наводит на мысль, что фосфокреатин распадается при мышечном сокращении. Это было признано не сразу, так как энергетический баланс мышечного сокращения более или менее удовлетворительно объяснялся распадом одного гликогена. Но роль фосфагена стала очевидной, когда были открыты новые факты. Было установлено, что мышца, помещенная в рингеровский раствор, содержащий в небольшой концентрации натриевую соль иодуксусной кислоты, отвечает, хотя и слабо, на раздражения. Она может дать около 100 сокращений и лишь после этого приходит в состояние окоченения и перестает отвечать на раздражения. При этом такая мышца не имеет внешнего вида, характерного для мышцы, окоченение которой наступило от избытка молочной кислоты. Анализ действительно показал, что в такой мышце содержится молочной кислоты не больше, чем в покоящейся. Несмотря на то, что ею проделано 100 сокращений, не обнаруживается никакого новообразования молочной кислоты! Очевидно мышца, отравленная иодоацетатом, получает энергию не за счет превращения гликогена в молочную кислоту, но из каких-то других источников. Естественно было предположить, что таким источником является фосфокреатин, который распадается и в отравленной мышце. Несомненно, что этот процесс должен происходить и в нормальной мышце, ибо трудно предположить, что роль фосфагена сводится лишь к тому, чтобы обеспечить мышце возможность проделать сотню сокращений при чисто искусственных, экспериментальных условиях—в случае отравления ее иодоуксусной кислотой. Впоследствии роль распада фосфагена была доказана, в частности, следую-

щим наблюдением. Когда фосфаген, растворенный в буферном растворе, расщепляется на эквивалентную смесь креатина и фосфорной кислоты, то происходит освобождение основных валентностей (вследствие того, что фосфорнокислый натрий является более щелочным веществом, чем фосфокреатиновый натрий). Наблюдения над поведением нормальной мышцы в атмосфере углекислого газа показали, что на протяжении первых нескольких сокращений мышца поглощает углекислый газ. Следовательно, прежде чем стать более кислой, благодаря образованию молочной кислоты, и выделять углекислый газ, она становится несколько более щелочной и его поглощает. Это доказывает, что распад фосфагена является более ранней стадией в последовательном ряду химических реакций мышечного сокращения.

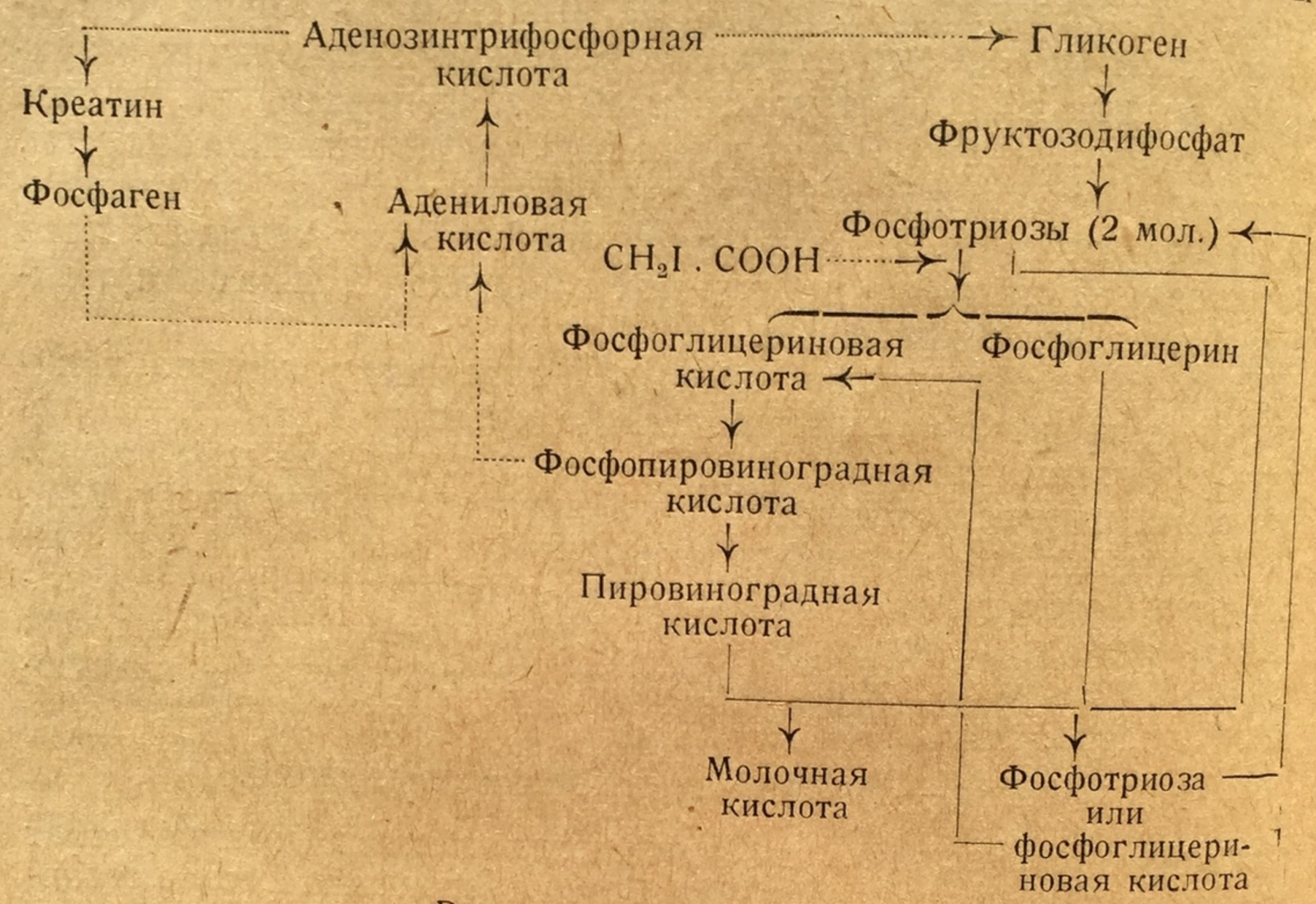
Далее было обнаружено, что мышца содержит некоторое количество фосфорной кислоты в дегидратированной форме, в виде пирофосфорной кислоты $H_4P_2O_7$; давно было известно также, что в ней имеются соединения типа нуклеотидов (ср. главу VII). Из последних наиболее важным является аденилова я кислота, состоящая из пуринового основания аденина, моносахарида рибозы (пентозы) и обычной или ортофосфорной кислоты (H_3PO_4). Таким образом, получается аденин-нуклеотид следующего состава:

аденин — рибоза — ортофосфорная кислота.

Теперь установлено, что адениловая кислота и пирофосфат в мышце связаны между собой, образуя весьма интересное соединение—аденилпирофосфорную кислоту или так называемую аденозинтрифосфорную кислоту (аденозин—это название комплекса из аденина и рибозы).

Доказано, что аденозинтрифосфорная кислота является в мышечной деятельности веществом первостепенной важности. Если удалить ее путем диализа из мышечного сока, то последний делается совершенно неспособным превращать углеводы в молочную кислоту. Ферменты мышцы гораздо быстрее переносят фосфорную кислоту с аденозинтрифосфорной кислоты на гликоген с образованием гексозодифосфата, чем это наблюдается в отношении неорганической фосфорной кислоты. Аденозинтрифосфорная кислота, очевидно, является не чем иным, как первичным источником фосфатов, участвующих во всех описанных нами реакциях. Дальнейшее изучение вопроса показало, что освободившаяся адениловая кислота снова присоединяет фосфорную и превращается вновь в аденозинтрифосфорную кислоту, отнимая для этого фосфат или от фосфагена, или от фосфопировиноградной кислоты. С другой стороны, аденозинтрифосфорная кислота, если она имеется в избытке, может отдавать свой фосфор креатину, ресинтезируя его обратно в фосфаген. Необходимо подчеркнуть, что все эти реакции протекают в строго определенной последовательности и что неорганический фосфат мышцы не является непосредственным резервом для всех процессов фосфорилирования.

Таким образом, мы установили, что в процессе обмена углеводов мышцы происходит круговой перенос фосфорной кислоты, которая прежде всего связывается гликогеном для образования фосфорных эфиров, столь важных для распада углеводов на молочную кислоту. Можно суммировать все сказанное в виде следующей схемы:



Распад углеводов в мышце

(Пунктирные линии указывают круговой перенос фосфорной кислоты)

Теперь, когда мы закончили основную часть нашей темы, остается добавить немного. Укажем прежде всего, что для углеводного обмена, кроме аденозинтрифосфорной кислоты, необходимы еще ионы магния. Далее отметим, что когда скорость распада аденозинтрифосфорной кислоты начинает превышать скорость ресинтеза и образующаяся адениловая кислота не сразу рефосфорилируется, то часть последней дезаминируется. Входящий в ее состав аденин превращается в гипоксантин, и получается вещество, известное под названием и н о з и н о в о й к и с л о т ы; оно было изолировано Либигом еще почти сто лет тому назад. Состав инозиновой кислоты следующий:

гипоксантин — рибоза — ортофосфорная кислота.

У читателя естественно мог возникнуть вопрос: в каком месте прерывает иодуксусная кислота процесс распада углеводов? Так как фосфоглицериновая кислота в мышечном соке, отравленном иодацетатом, легко превращается в пировиноградную, то очевидно, что действие иодуксусной кислоты касается каких-то более ранних ступеней распада и, вероятно, заключается в торможении превращения фосфотриоз в фосфоглицерин и в фосфоглицериновую кислоту; мы отметили это в нашей схеме распада углеводов в мышце. Но следует добавить, что иодацетат действует, вероятно,

также и в более поздних стадиях распада углеводов, а именно тормозит восстановление пировиноградной кислоты в молочную. Впрочем, в мышце это трудно заметить, потому что вследствие задержки процесса распада на более ранней стадии пировиноградной кислоты совсем не образуется.

Познакомившись, таким образом, с процессом образования молочной кислоты в мышце, мы перейдем теперь к рассмотрению дальнейшей судьбы молочной кислоты. Бóльшая часть ее, ресинтезирующаяся обратно в гликоген, вероятно, проходит через те же стадии, чтó и при распаде, так как одни и те же вещества тормозят и распад, и ресинтез гликогена. Одна пятая часть молочной кислоты окисляется и, пройдя ряд превращений, выделяется, в конце концов, в виде углекислого газа и воды. Наиболее вероятно, что сначала молочная кислота переходит обратно в пировиноградную кислоту; ранее предполагалось, что последняя, теряя CO_2, дает ацетальдегид:

$$\underset{\text{пировиноградная кислота}}{\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array}} \longrightarrow \underset{\text{ацетальдегид}}{\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CHO \end{array}} + CO_2$$

Ацетальдегид при дальнейшем окислении дает уксусную кислоту—вещество, которое, как известно, легко окисляется в организме в углекислый газ и воду. Этот взгляд до некоторой степени подтверждается тем, что в свежей нормальной крови обнаруживается ацетальдегид. Однако при перфузии мышцы раствором, содержащим пировиноградную кислоту, в протекающей жидкости обнаруживается наличие янтарной и муравьиной кислот, а не уксусной. Это можно объяснить предположением, что две молекулы пировиноградной кислоты конденсируются в шестиуглеродную цепь, которая распадается на одну молекулу янтарной кислоты:

$$\begin{array}{c} CH_2 \cdot COOH \\ | \\ CH_2 \cdot COOH \end{array}$$

и две молекулы муравьиной. Затем муравьиная кислота легко окисляется в мышце в CO_2 и воду, а янтарная кислота, теряя молекулу угольного ангидрида и претерпевая некоторые другие изменения, вновь превращается в пировиноградную кислоту. В окончательном результате из первоначальных двух молекул пировиноградной кислоты одна окисляется полностью, а другая регенерируется, чтобы, пройдя тот же путь, окислиться в свою очередь. Таков тот сложный путь, который необходим, чтобы окислить простую молекулу моносахарида!

Теперь у читателя может возникнуть вопрос, какие из этих сложных и взаимосвязных процессов участвуют в развитии натяжения

мышечных волокон и какие из них являются причиной мышечного сокращения. По мере накопления знаний делались различные предположения о том, каким путем химические изменения ведут к укорочению и напряжению мышечного волокна. Известно, что мышца при сокращении лишь незначительно изменяет свой объем, так что развитие ее напряжения связано с «перераспределением» составляющих мышцу веществ. Согласно одной из ранних теорий, предполагалось, что это перераспределение заключается в том, что внутри каких-то цилиндрических полупроницаемых мембран большие молекулы (гликоген), расположенные в мышечных волокнах, распадаются на значительное число маленьких (молочная кислота). Возрастающее при этом осмотическое давление приводит к поступлению воды из других частей мышечного волокна внутрь полупроницаемых мембран, которые принимают сферическую форму, и волокно укорачивается. Другая теория предполагает, что укорочение мышечного волокна вызвано его набуханием вследствие образования кислоты, как это можно наблюдать на кусочке желатины, помещенном в кислый раствор. Полагали также, что молочная кислота выделяется на каких-то активных поверхностях, что́ вызывает увеличение поверхностного натяжения, а как следствие этого—укорочение мышечного волокна. Но для развития напряжения одного мышечного волокна необходимо повышение поверхностного натяжения, в несколько раз превышающее установленные прямым опытом величины изменений, обусловленных молочной кислотой. Все эти теории создавались в то время, когда думали, что важнейшей предпосылкой мышечного сокращения является образование молочной кислоты. Однако теперь молочная кислота, когда-то рассматривавшаяся как важнейший компонент механизма мышечного сокращения, заняла, по выражению Эггльтона, скромное положение второстепенного побочного продукта.

В настоящее время внимание исследователей обращено на следующее: исследование в поляризованном свете указывает на то, что молекулы, образующие вещество мышцы, расположены не в беспорядке, но правильно, как в кристалле,—мышечное вещество состоит из жидких кристаллов. Пытались объяснить напряжение мышцы как следствие изменения интрамолекулярных сил, как результат изменения ориентации, вызванный химическими превращениями тех молекулярных цепей, которые образуют мышечные волокна. Пытались использовать рентгеновский анализ, который оказался столь плодотворным при изучении молекулярной структуры твердых кристаллов. В конечном итоге следует признать, что наши современные познания о химизме мышечной деятельности не дают еще возможности связать самый акт сокращения мышцы с какой-либо определенной стадией распада углеводов. Может быть, мы вообще неправы, пытаясь это сделать; может быть, следует совершенно иначе расценивать весь процесс, рассматривая мышечное волокно как особую структуру, обладающую постоянной тенденцией к самопроизвольному сокращению. Ведь

когда мышца умирает, когда ее химические процессы прекращаются, то она сокращается: мертвая мышца—это сократившаяся мышца. Можно предположить, что все эти превращения гликогена, адениловой кислоты, креатина и фосфатов необходимы как источники энергии, поддерживающие сократительную структуру в растянутом состоянии, пока мышца жива и находится в состоянии покоя, или, может быть, в еще большей степени для обеспечения возможности ее растяжения после сокращения.

Изучение обмена углеводов в мышце наводит на мысль о сходстве этих процессов со сбраживанием глюкозы дрожжами в алкоголь и угольную кислоту. Хотя эта тема и интересна, но мы не можем достаточно полно изложить ее. Достаточно указать, что опыты с дрожжевым соком показали, что здесь сахар также фосфорилируется, а затем через фосфотриозы образуется фосфоглицериновая кислота и фосфоглицерин, так же как и в мышце. Фосфоглицериновая кислота дает далее пировиноградную кислоту, а последняя подвергается декарбоксилированию под влиянием весьма характерного для дрожжей фермента—к а р б о к с и л а з ы; в результате образуется CO_2 как один из конечных продуктов брожения и ацетальдегид. Фосфоглицерин при этом не претерпевает дальнейших превращений, как в мышце: он гидролизуется, и при этом получается небольшое количество глицерина, являющегося постоянным побочным продуктом алкогольного брожения. Ацетальдегид восстанавливается в алкоголь не фосфо-глицерином, но фосфотриозой, возникающей на более ранней ступени сбраживания. Так как при этой реакции фосфотриоза окисляется в фосфоглицериновую кислоту (которая затем образует пировиноградную), то как только в начальном периоде накопилось достаточное количество ацетальдегида, чтобы полностью окислять фосфотриозу, новых количеств фосфоглицерина уже не возникает. Если добавить к бродящей смеси бисульфита натрия, то ацетальдегид связывается последним и совершенно устраняется из хода реакции. Дрожжи поддерживают в этих условиях первоначальный тип сбраживания и накопляют глицерин. Главное различие между химизмом брожения и химией мышечного сокращения заключается, следовательно, в том, что в дрожжах пировиноградная кислота не восстанавливается в молочную кислоту, а декарбоксилируется ферментом карбоксилазой (отсутствующим в мышце) в ацетальдегид, а последний восстанавливается в алкоголь.

ГЛАВА XI

ПАТОЛОГИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА; ГЛЮКОЗУРИЯ, ДИАБЕТ

Большое значение для изучения углеводного обмена имеет расстройство его, характеризующееся выделением глюкозы с мочой. Это расстройство, с а х а р н ы й д и а б е т, было известно уже давно, когда еще единственным способом распознавания сахара

был его сладкий вкус. Этим путем сахарный диабет отличали от сходного с ним расстройства обмена (обычно водного), при котором выделяется огромное количество безвкусной, не содержащей сахара мочи,—от несахарного диабета.

Для более подробного изучения диабета необходимо ознакомиться с различными состояниями, при которых сахар может появляться в моче. Здесь прежде всего важно выяснить отношение почки к сахару крови. Кровь содержит нормально около 0,1% сахара, целиком представляющего собой глюкозу. Согласно современным взглядам, в почке глюкоза фильтруется из крови в просвет гломерул в неизмененной концентрации, а затем полностью всасывается обратно в кровь в почечных канальцах. Почки всасывают всю глюкозу обратно в кровь, если концентрация ее в крови не превышает 0,18%—количество, которое приблизительно вдвое больше нормального; это так называемый почечный порог. Если содержание сахара в крови превышает эту величину, то канальцы уже не справляются с обратным всасыванием сахара, который остается в моче, и наступает глюкозурия. Поведение почек в отношении глюкозы резко отличается от их поведения в отношении мочевины, которая не имеет никакого порога; мочевина выделяется с мочой независимо от того, велика или мала ее концентрация в крови. Таким образом, одной из возможных причин глюкозурии может быть избыточная концентрация глюкозы в крови. В нормальном организме механизм превращения избытков глюкозы в гликоген настолько совершенен, что получить пороговую концентрацию сахара в крови нелегко даже при употреблении свободной глюкозы и еще труднее получить ее при потреблении крахмала, который медленно переваривается и медленно всасывается. Вызвать такую алиментарную глюкозурию можно лишь, приняв примерно 400 г сахара. При исследовании углеводного обмена больных исследуемому обычно дают 50 г глюкозы. У нормальных лиц в этих условиях сахар крови никогда не достигает концентрации почечного порога.

С другой стороны, можно получить глюкозурию и при нормальных концентрациях сахара крови, если тем или другим способом понизить всасывающую способность канальцев. Так возникают глюкозурии почечного типа, которые не являются показателем какого-либо серьезного нарушения обмена. Когда это наблюдается у человека, то говорят о diabetes innocens—безобидном диабете. Подобного рода состояние можно вызвать у животного, впрыскивая ему флоридзин, который добывается из коры вишни и яблони. Флоридзин делает почки проницаемыми для сахара и употребляется, когда хотят лишить экспериментальное животное резервов углеводов или когда надо определить, превращается ли какое-нибудь вещество в процессе обмена в глюкозу.

Другой метод получения глюкозурии был открыт Клодом Бернаром, когда он пытался изучить влияние раздражения ядра блуждающего нерва на печень. К своему удивлению, он обнаружил,

что укол в дно IV желудочка мозга, даже без электрического раздражения, вызывает у животного глюкозурию как результат быстрого выделения глюкозы из печени и соответствующего повышения ее концентрации в крови (гипергликемия); этот опыт известен под названием «сахарного укола». Дальнейшее изучение этого явления показало, что оно вызвано не влиянием блуждающего нерва, но раздражением, которое идет через спинной мозг и чревные нервы к печень Этому эффекту способствует адреналин, выделяемый надпочечниками, которые при таком опыте должны быть сохранены. Сахарный укол вызывает глюкозурию даже у животных, печень которых путем голодания освобождена от запасов гликогена; это доказывает, что здесь играет роль не только мобилизация глюкозы из резервов печени, но и ее новообразование (глюконеогения) из других, неуглеводных источников, например, из аминокислот. Сходный эффект может быть вызван просто введением большой дозы адреналина.

Наиболее важное открытие, относящееся к сахарному диабету, было сделано Мерингом и Минковским в 1889 году. Они удаляли у собак всю панкреатическую железу и изучали при этом процесс переваривания жиров. Каково было их удивление, когда они обнаружили у собак, лишенных поджелудочной железы, сильнейшую глюкозурию и другие признаки, несомненно свойственные сахарному диабету. Что причина этого заключалась не в прекращении поступления поджелудочного сока в двенадцатиперстную кишку, видно из того, что одна перевязка выводного протока железы диабета не вызывает. Не развивается он и в том случае, если удаленная поджелудочная железа пересаживается тому же животному в подкожную клетчатку при условии достаточного кровоснабжения пересаженного органа. Очевидно, нормальное состояние углеводного обмена поддерживается каким-то инкретом, или гормоном, вырабатываемым поджелудочной железой. Это доказывается еще тем наблюдением, что при удалении поджелудочной железы у беременной собаки достаточно инкрета поджелудочных желез эмбрионов, диффундирующего через плаценту и поступающего в материнскую кровь, чтобы предотвратить появление у матери диабета до момента рождения детенышей, когда она лишается этого источника гормона. Из гистологии читатель, вероятно, помнит, что ткань поджелудочной железы состоит из клеток двоякого рода. Наряду с железистыми альвеолами, выстланными клетками, которые вырабатывают поджелудочный сок—продукт внешней секреции,—поджелудочная железа содержит также тканевые массы, которые состоят из клеток, не имеющих альвеолярного расположения. Эти клеточные массы получили название островков Лангерганса. Островки эти обильно снабжаются кровью и, следовательно, приспособлены к роли внутрисекреторного аппарата. Экспериментальным путем доказано, что клетки островков, действительно, не имеют ничего общего по происхождению и функции с остальными клетками железы, вырабатывающими внешний секрет. Инкрет, вырабатываемый островками Лангерганса и

поступающий из них в кровь, повидимому, необходим для окисления глюкозы в тканях. При отсутствии этого инкрета ткани теряют способность потреблять глюкозу в качестве горючего материала, вследствие чего она накопляется в крови в повышенном количестве и начинает переходить в мочу. Чтобы покрыть потребность тканей в глюкозе, организм расщепляет отложенный в тканях запас гликогена,—однако безрезультатно, так как получающаяся из гликогена глюкоза используется не лучше, чем та, которая всасывается из пищеварительного канала. Далее наступает ненормально ускоренный распад тканевых белков; получается усиленная глюконеогения. Такой ход процесса доказывается тем, что при глюконеогении устанавливается постоянное количественное соотношение между содержанием глюкозы и общим количеством азота в моче, указывающее на общий источник их происхождения, а именно на тканевые белки. У животного, отравленного флоридзином, когда весь образующийся в организме сахар выделяется с мочой, отношение $\frac{D}{N}$ (декстроза : азот) достигает приблизительно 3,65. Чем ближе указанное отношение к этой величине при других случаях нарушения углеводного обмена у человека или экспериментального животного, тем серьезнее должно считаться наступившее расстройство.

Диабет человека почти во всех отношениях сходен с экспериментально полученным панкреатическим диабетом собак, хотя он не всегда сопровождается видимыми патологическими изменениями в поджелудочной железе. Высокая концентрация сахара в фильтрате клубочков подавляет всасывание воды в канальцах почки; этим объясняется выделение при диабете больших количеств воды и постоянная жажда. Повышенный распад белков обусловливает изнурение, обычное у диабетиков, и, естественно, является более серьезным нарушением, чем повышенная трата сахара. Но не менее опасным симптомом диабета является нарушение окисления жиров, возникающее как следствие расстройства углеводного обмена. Вместо того, чтобы окислиться до угольного ангидрида и воды, жирные кислоты остаются в полуокисленной форме, давая ацетоуксусную кислоту

$$CH_3 \cdot CO \cdot CH_2 \cdot COOH$$

и β-оксимасляную

$$CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot COOH.$$

Формулу ацетоуксусной кислоты легче запомнить, если представить ее как продукт замещения водородного атома в метильной группе уксусной кислоты на ацетильную группу $CH_3.CO$. Из ацетоуксусной кислоты путем отщепления CO_2 от карбоксильной группы легко получается ацетон $CH_3.CO.CH_3$; ввиду близкого родства все три перечисленных вещества объединяются под одним общим наименованием «ацетоновых тел». Ацетон выде-

ляется у диабетиков через легкие и может быть распознан по характерному запаху; вместе с прочими ацетоновыми телами мы находим его и в моче. Здесь ацетон можно качественно обнаружить при помощи следующей реакции: пробу исследуемой мочи насыщают сернокислым аммонием, слегка подщелачивают аммиаком и затем прибавляют 1—2 капли нитропруссида натрия; получается интенсивное пурпурное окрашивание, указывающее на присутствие ацетона или ацетоуксусной кислоты. Скорость образования и интенсивность окраски дают возможность для грубого суждения и о количестве этих веществ.

Ацетоновые тела ядовиты прежде всего потому, что они—сильные кислоты и поэтому нарушают кислотно-щелочное равновесие тканей. Доказательством наступающего нарушения последнего служит повышенное выделение аммиака с мочой. В норме аммиак превращается в печени в мочевину, при нарушениях же кислотно-щелочного равновесия он используется для нейтрализации кислот. Далее, понижается напряжение углекислого газа в альвеолярном воздухе, так как накопление водородных ионов в крови приводит к раздражению дыхательного центра, к усиленной вентиляции легких и ускоренному выделению углекислоты. Это уменьшение содержания углекислого газа в альвеолярном воздухе,—а значит, и в артериальной крови,—имеет и другой смысл, поскольку повышение кислотности, вызванное накопляющимися ацетоновыми телами, в известной мере компенсируется понижением содержания углекислоты. Но вредное влияние ацетоновых тел не ограничивается их действием как кислот: ацетоновые тела ядовиты сами по себе, так как даже их нейтральные натриевые соли оказывают вредное действие на организм. Если диабетик не подвергается соответствующему лечению, то ацетоновые тела накопляются в крови, отравляют нервную систему и вызывают состояние диабетической комы, исход которой почти всегда бывает роковым.

Мы указали, что ацетоновые тела образуются из жиров во всех тех случаях, когда нарушается углеводный обмен. Неудивительно поэтому, что образование их наблюдается не только при расстройстве обмена, связанном с сахарным диабетом, но и в ряде других случаев: при отсутствии углеводов в пище, при полном голодании, а также при истощении, наступающем как следствие неукротимой рвоты, которая сопровождает многие заболевания. Нормальный субъект может легко вызвать такой к е т о з, исключив дня на два из своей диэты сахар, хлеб, картофель и питаясь продуктами с высоким содержанием жира (жирное мясо, масло, яйца и т. д.). Моча у него дает положительную реакцию на ацетоновые тела, но все эти патологические явления исчезают, как только восстанавливается нормальная диэта.

Эмбден установил, что ацетоновые тела образуются при пропускании через печень жирных кислот с четным числом углеродных атомов, т. е. кислот того же типа, что и в натуральных жирах. В сущности ацетоновые тела представляют остаток, получающийся

при попарном отщеплении атомов углерода от длинной углеродной цепи, содержавшей первоначально четное количество атомов, к тому моменту, когда остаются только две пары атомов углерода. Нормальный организм полностью окисляет эти остаточные четырехуглеродные цепи в углекислоту и воду, в организме же диабетика имеется только слабая попытка подвергнуть эти вещества β-окислению—попытка, о которой свидетельствует наличие группы CO в β-положении в ацетоуксусной кислоте и группы CH.OH в оксимасляной кислоте. Заключительное β-окисление, по-видимому, протекает до конца только в том случае, когда одновременно происходит окисление углеводов.

Из кислот с нечетным числом углеродных атомов ацетоновые тела не образуются. Это давало повод думать, что кетоз может быть предотвращен, если заменить бо́льшую часть жиров в диэте синтетическим глицеридом 17-углеродной маргариновой кислоты. Но это не удалось; неизвестно, однако, достаточно ли хорошо всасывается она из кишечника. Наконец, в отношении ацетоуксусной кислоты следует добавить, что она образуется не только из высших жирных кислот с четным числом углеродных атомов, но возникает и из уксусной кислоты при пропускании ее через печень, а также из некоторых аминокислот, например, из фенилалаина, тирозина, лейцина.

Вернемся, однако, к диабету. До недавнего времени единственный метод лечения диабета заключался в даче больших доз двууглекислого натрия для нейтрализации кислот. Во многих случаях оказалось возможным повысить выносливость организма диабетика к углеводам, давая их в постепенно возрастающем количестве, при условии, чтобы в каждый данный момент содержание углеводов в пище не превышало предела выносливости. В настоящее время мы, однако, имеем возможность лечить это заболевание более радикальными способами, давая пациенту экстракт поджелудочной железы, содержащий активный гормон лангергансовых островков. Существование этого гормона признавалось уже давно, но только в 1922 году Бантинг и Бест, работавшие в Торонто, после ряда безуспешных попыток извлечь гормон из поджелудочной железы, получили, наконец, положительные результаты; этот гормон получил название инсулина.

Неудачи прежних попыток изолирования объясняются тем, что исследователи не учитывали энергичного разрушающего действия, оказываемого на гормон протеолитическим ферментом—трипсином, вырабатываемым клетками самой поджелудочной железы. Как только были найдены методы извлечения, при которых инсулин не подвергается трипсиновому перевариванию, удалось получить активные экстракты. Сперва был предложен метод, заключавшийся в экстрагировании поджелудочной железы животных, которым за некоторое время до этого была произведена перевязка выводного протока железы. Последствием этой операции является полное перерождение пищеварительных секреторных клеток, в то время как островки Лангерганса остаются неприкосновенными.

Был предложен еще и другой метод, основывавшийся на извлечении гормона из эмбриональных панкреатических желез, в которых развития достигла только ткань островков, тогда как клетки, вырабатывающие фермент, еще не функционируют. Но для этих методов необходим настолько мало доступный материал, что для производства инсулина в широком масштабе они непригодны. В настоящее время инсулин изготовляется фабричным методом, для чего цельные поджелудочные железы взрослых животных, получаемые с боен, экстрагируются крепким спиртом; содержащийся в железах трипсин осаждается и переходит в инактивное состояние. Инсулин под влиянием спирта не изменяется и после дальнейшей обработки может быть получен в концентрированном виде.

Приготовленный таким образом экстракт оказывает на диабетиков чрезвычайно благотворное действие. Количество выделяемого с моч й сахара значительно уменьшается, образование ядовитых ацетоуксусной и β-оксимасляной кислот приостанавливается и уровень сахара крови возвращается к нормальным цифрам. При впрыскивании инсулина здоровым, недиабетическим животным концентрация сахара в крови также понижается; в этом случае она падает значительно ниже нормальной, даже до 0,04%—приблизительно до половины нормы; в результате недостаточного снабжения нервных клеток сахаром у животных начинаются судороги, они могут погибнуть. Это обстоятельство чрезвычайно важно, так как оно показывает, что введение чрезмерных доз гормона может повести к крайне нежелательным последствиям. В то же время этот опыт дает нам в руки метод стандартизации инсулиновых препаратов. Относительное содержание действующего начала в данном препарате инсулина измеряют, устанавливая то количество препарата, которое необходимо ввести кролику или мыши, чтобы за определенный промежуток времени понизить концентрацию сахара в крови до того уровня, при котором наступают судороги. Количество инсулина, вызывающее это действие у голодающего кролика весом в 2 кг через 4 часа после впрыскивания, принимается за физиологическую единицу.

Возможная опасность ввести инсулин в дозе, превышающей физиологическую потребность больного, могла бы послужить серьезным препятствием к применению этого средства. К счастью, некоторые, более легкие симптомы появляются задолго до того, как наступает опасная судорожная стадия, и легко устраняются введением больших количеств глюкозы per os или в вену. Более существенным недостатком является то, что инсулин не настолько устойчив, чтобы противостоять разрушающему действию ферментов пищеварительного канала. Поэтому его нельзя принимать per os, а приходится вводить путем повторных подкожных инъекций. Этим инсулин резко отличается от гормона щитовидной железы, беспрепятственно всасывающегося в неизмененном виде при введении с пищей.

Совершенно естественно, что механизм действия инсулина, ввиду его большого теоретического и практического значения, стал пред-

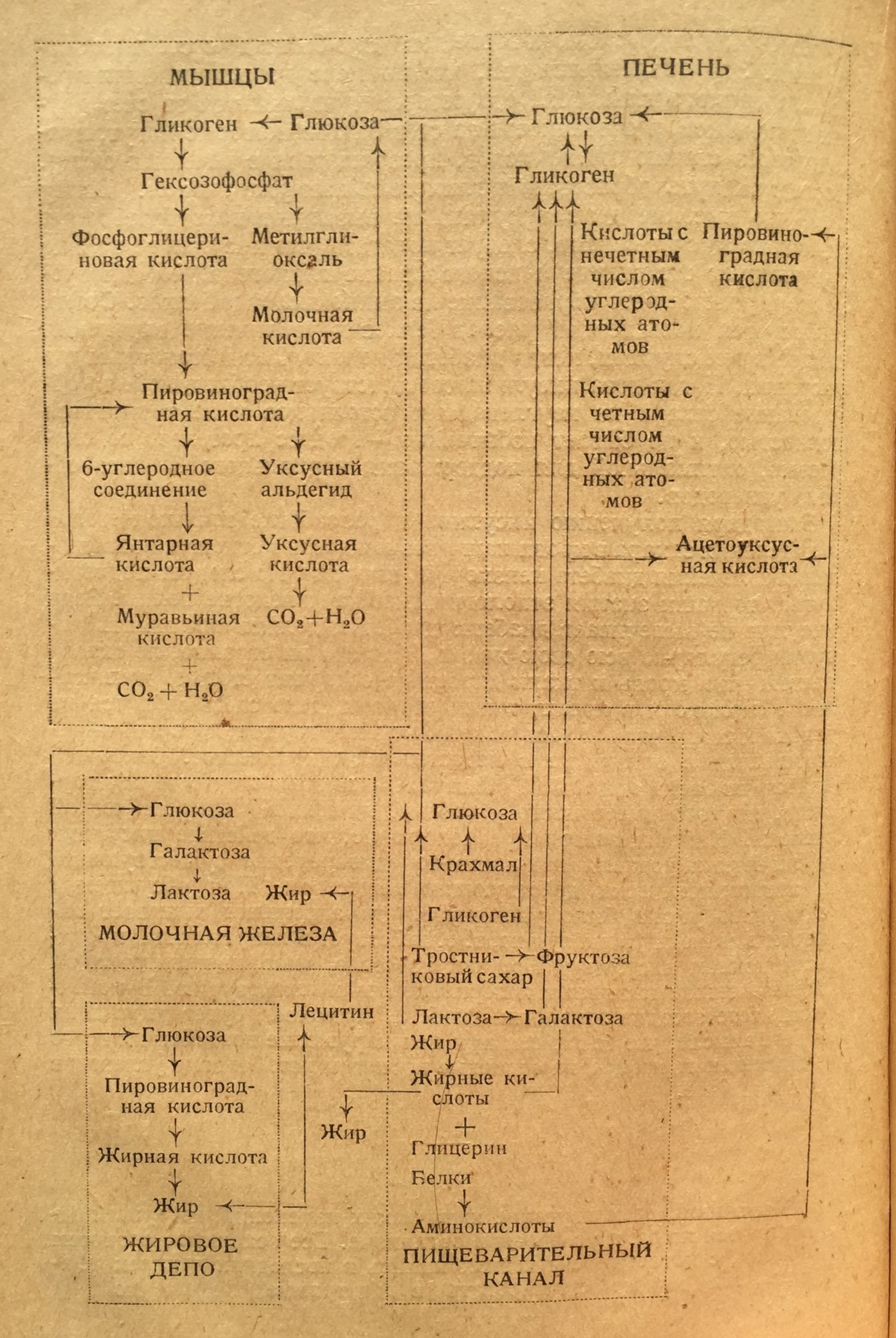
метом весьма подробного изучения. Инсулиновое лечение позволяет диабетику жить более или менее активно, вместо того чтобы покорно ожидать смерти на больничной койке. Чем больше мы будем знать о механизме действия инсулина, тем точнее и правильнее будут наши представления о природе самого диабета. Эксперимент на целом животном протекает в слишком сложных условиях и не позволяет выяснить сущность первичного эффекта инсулина. Можно упростить условия опыта, взяв животное с разрушенной нервной системой и удаленными внутренностями, причем печень выключена из кровообращения. Практически от животного остается скелет и мышцы. Если через такое животное пропускать рингеровский раствор, содержащий глюкозу, концентрация которой соответствует концентрации глюкозы в крови, то за время опыта содержание глюкозы остается постоянным, а не падает, как это наблюдалось бы у нормального животного. Но если добавить в рингеровский раствор инсулина, то, как об этом можно судить по количеству поглощенного кислорода и выделенной углекислоты, окисление углеводов повышается и, кроме того, в мышцах отлагаются значительные количества гликогена. Весь сахар, который исчез из пропускаемой через такой организм жидкости, может быть подсчитан как сумма окисленной глюкозы и глюкозы, отложенной в виде гликогена. Очевидно, первичный эффект инсулина заключается в стимулировании сжигания углеводов и отложения гликогена. Если вводить инсулин целому животному, где нет постоянной доставки глюкозы извне, то превращение сахара крови в мышечной гликоген приводит ко вторичной реакции, в которой участвует печень. В печень поступают импульсы из нервной системы и вызывают гидролиз содержащегося в печени гликогена; этот гидролиз имеет целью поддержать концентрацию глюкозы в крови на нормальном уровне. При чрезмерно высоких дозах инсулина гликогена печени нехватает для поддержания нормального уровня сахара крови. В результате недостатка глюкозы нарушается нормальная деятельность нервной системы, которая посылает в мышцы беспорядочные импульсы,—начинаются гипогликемические судороги, о которых мы уже говорили. Судороги вызывают израсходование весьма значительных количеств гликогена, так что в конечном итоге инъекция инсулина приводит к тому, что у животного остается очень мало гликогена в печени и в мышцах и мало сахара в крови. Гликоген мышц может израсходоваться во время судорог даже нацело, если в крови нет больше сахара, который мог бы пополнить убыль гликогена. Установлено, что в тех случаях, когда израсходован весь гликоген, мышца впадает в состояние щелочного окоченения, аналогичное тому, которое получается при отравлении мышцы иодуксусной кислотой, когда участие гликогена в мышечной деятельности исключается.

При нормальной мышечной деятельности также имеет место повышенное потребление углеводов, но оно не приводит ни к заметному понижению содержания сахара в крови, ни к такому обед-

нению мышц гликогеном, которое доводило бы их до состояния окоченения. Это объясняется тем, что по мере израсходования преформированного гликогена его резервы пополняются за счет других источников, в особенности за счет белков, которые могут, проходя через стадию аминокислот, превращаться в печени в сахар. Последний путь образования гликогена нам уже знаком. Ввиду того, что высокие дозы инсулина не вызывают новообразования гликогена за счет белков, следует полагать, что инсулин не только стимулирует отложение и использование гликогена, но одновременно и угнетает его образование из аминокислот и белков. С этим согласуется повышенный распад белков и увеличение выделения сахара в тех случаях, когда диабетик не получает достаточных доз инсулина. Когда доза инсулина соответствует необходимой, то образование сахара из неуглеводных источников и не тормозится полностью, и не бывает избыточным—процесс протекает со скоростью, оптимальной для поддержания нормального баланса обмена углеводов.

Благодаря получению инсулина и разработке точных методов определения сахара в крови наши возможности в отношении наблюдения и лечения диабета неизмеримо выросли. Но следует подчеркнуть, что наши знания этиологии диабета далеко не полны. Ведь инсулин не вылечивает диабета: диабетик должен принимать инсулин регулярно всю свою жизнь. Как это ни странно, но оказывается, что кровь и ткани диабетика содержат столько же инсулина, сколько и в норме; таким образом, дело здесь сводится не только к тому, что мы доставляем больному гормон, который вырабатывается в организме в недостаточном количестве. Сахарный диабет человека отнюдь не обязательно вызван отсутствием инсулина, нак это имеет место у собаки, лишенной панкреатической железы. Напрашивается предположение, что действие инсулина у диабетика подавляется каким-то одновременно существующим и антагонистически действующим веществом. При обсуждении сахарного укола было упомянуто, что адреналин вызывает гипергликемию и глюкозурию, т. е. действует в направлении, противоположном инсулину. Но, как известно, гипофиз и щитовидная железа также вызывают гипергликемию и глюкозурию. В конечном итоге загадка этиологии диабета, возможно, будет разрешена в том смысле, что мы имеем при нем нарушение воздействия всего комплекса гормонов на основные процессы метаболизма углеводов в организме.

Мы заканчиваем изучение химических изменений, которым подвергаются жиры и углеводы в организме. Все основные процессы обмена, с которыми мы познакомились в последних четырех главах, мы можем суммировать в диаграмме, помещенной на стр. 122.


МЫШЦЫ
Гликоген
Глюкоза
Гексозофосфат
Фосфоглицериновая кислота
Метилглиоксаль
Молочная кислота
Пировиноградная кислота
6-углеродное соединение
Уксусный альдегид
Янтарная кислота
Уксусная кислота
Муравьиная кислота
CO_2+H_2O
CO_2+H_2O
ПЕЧЕНЬ
Глюкоза
Гликоген
Кислоты с нечетным числом углеродных атомов
Пировиноградная кислота
Кислоты с четным числом углеродных атомов
Ацетоуксусная кислота
Глюкоза
Галактоза
Лактоза
Жир
МОЛОЧНАЯ ЖЕЛЕЗА
Лецитин
Глюкоза
Пировиноградная кислота
Жирная кислота
Жир
ЖИРОВОЕ ДЕПО
Жир
Глюкоза
Крахмал
Гликоген
Тростниковый сахар
Фруктоза
Лактоза
Галактоза
Жир
Жирные кислоты
Глицерин
Белки
Аминокислоты
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЙ КАНАЛ

ГЛАВА XII

ЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ ОРГАНИЗМ КАК МАШИНА. ЕГО ПОТРЕБНОСТЬ В ГОРЮЧЕМ И БАЛАНС ЭНЕРГИИ

Мы рассмотрели во всех подробностях химические превращения, сопровождающие использование в качестве источников энергии всех трех главных групп пищевых веществ. Теперь нам следует подойти к рассмотрению организма в целом, с точки зрения его потребности в горючем материале. Для того чтобы разрешить этот вопрос, мы должны знать, во-первых, общее количество энергии, расходуемое организмом за сутки (включая сюда все могущие иметь место потери в виде тепла), а во-вторых количество энергии, которое может быть получено из определенного количества горючего при тех условиях, которые мы имеем при работе организма. Наш организм требует доставки энергии для выполнения мышечной работы и для поддерживания на постоянном уровне температуры тела. Вообще говоря, почти все количество мышечной работы, которую мы совершаем при нашей обычной повседневной деятельности, в конечном счете превращается в тепло. Так, например, энергия, затрачиваемая при ходьбе или езде на велосипеде, расходуется на преодоление тех сопротивлений, которые обусловлены трением; энергия, затрачиваемая кузнецом, превращается в тепло, повышающее температуру того предмета, на который падают мощные удары молота; даже энергия, возникающая в пальцах, которые пишут эти строки, превращается в тепло благодаря трению между пером и бумагой, по которой оно движется. Лишь в том случае, когда мы используем работу мышц для накопления некоторого количества энергии в потенциальной форме, например, путем поднятия груза на известную высоту, работа эта не превращается непосредственно в теплоту. Отсюда следует, что если бы мы располагали средствами для измерения скорости выделения тепла живым существом, то мы имели бы возможность судить о том, с какой скоростью в данном организме идет освобождение энергии, а следовательно, знали бы, какое общее количество усвояемой пищи требуется, чтобы покрыть этот расход энергии. Количества тепловой энергии выражаются в калориях; калория представляет собой количество тепла, необходимое для того, чтобы поднять температуру единицы массы воды на 1°. Для физических целей в качестве единицы массы удобно брать 1 г воды, но при изучении энергетических превращений в нашем теле удобнее взять единицу, в тысячу раз бо́льшую. Это так называемая большая к а л о р и я, обозначаемая при написании через К; она представляет собой то количество тепла, которое требуется, чтобы нагреть 1 кг воды на 1°. Для наших целей всего удобнее будет выражать все количества энергии именно в этих тепловых единицах. Мы можем сделать это, ибо чрезвычайно точными и тщательными исследованиями установлено, что определенному количеству механической работы соответствует всегда строго определенное количество тепловой энергии. Отношение количества механической работы к соответствующему

количеству тепловой энергии носит название механического эквивалента тепла. При физических опытах обычно количество тепла, отдаваемого каким-либо телом, измеряют посредством того или иного вида калориметра; последний представляет собой сосуд, в котором измеряется поднятие температуры находящегося в нем определенного количества воды. В большинстве случаев те изменения температуры, которые подвергаются исследованию, настолько быстры, что за время их не успевает наступить заметного охлаждения сосуда, и можно считать, что практически вся выделившаяся теплота поглощается находящейся в приборе водой. Таков, например, принцип измерений с помощью калориметрической бомбы, которой пользуются для определения общей теплоты сгорания пищевых веществ. Для этого отвешенное количество испытуемого материала помещают в герметическую стальную бомбу, наполняемую кислородом под давлением. Теплота, освобождающаяся при быстром сгорании, вызывает повышение температуры воды, в которую погружена бомба; количество воды заранее известно, и повышение температуры точно отсчитывается. На основе полученных данных можно непосредственно вычислить количество выделившегося тепла, учитывая при этом, разумеется, и то количество, которое затрачивается на нагревание самой бомбы и прочих металлических частей самого калориметра.

Но если мы имеем дело с животным, то тут выделение тепла идет непрерывно и постепенно, так что лишь при точном учете потери тепла самим калориметром можно было бы при неизбежно требуемых длительных сроках наблюдения получить сколько-нибудь правильное представление о размерах происходящих в организме энергетических превращений. Возникающие в связи с этим трудности можно обойти различными путями. Рубнер в опытах с животным отмечал величину подъема температуры калориметра за определенный промежуток времени. Затем вместо животного помещалось газовое пламя, величину которого регулировали до тех пор, пока оно не начинало вызывать совершенно такой же подъем температуры, как и животное. В этот момент теплообразование в пламени равнялось теплообразованию в животном. Измеряя скорость тока газа, зная тот объем его, который сгорал за единицу времени, и зная количество тепла, освобождающееся при сгорании определенного объема газа, можно было вычислить величину теплообразования исследуемого животного, т. е. скорость протекающего в нем окислительного обмена. Хилл нашел, что для мелких животных или для изолированных мышц хорошим калориметром могут служить дьюаровские сосуды, типа термосных склянок. Скорость теплоотдачи у них очень мала и во всяком случае может быть легко определена и учтена при любой постановке опыта.

Совсем другого порядка трудности возникают, когда приходится конструировать калориметрическую камеру таких размеров, чтобы в ней мог поместиться человек; здесь осуществить тепловую изоляцию несравненно труднее, чем в том случае, когда дело касается

небольшого животного или изолированного органа. Однако американским ученым Этуотеру и Бенедикту удалось разрешить эту трудную задачу и сконструировать такого рода камеру (рис. 10). Они не стремятся при устройстве камеры избежать потерь тепла посредством надежной изоляции. Вместо этого они помещают собственно калориметрическую камеру внутри другой, стенки которой при помощи электрического нагрева поддерживаются на той же самой температуре, как и наружная стенка калориметри-

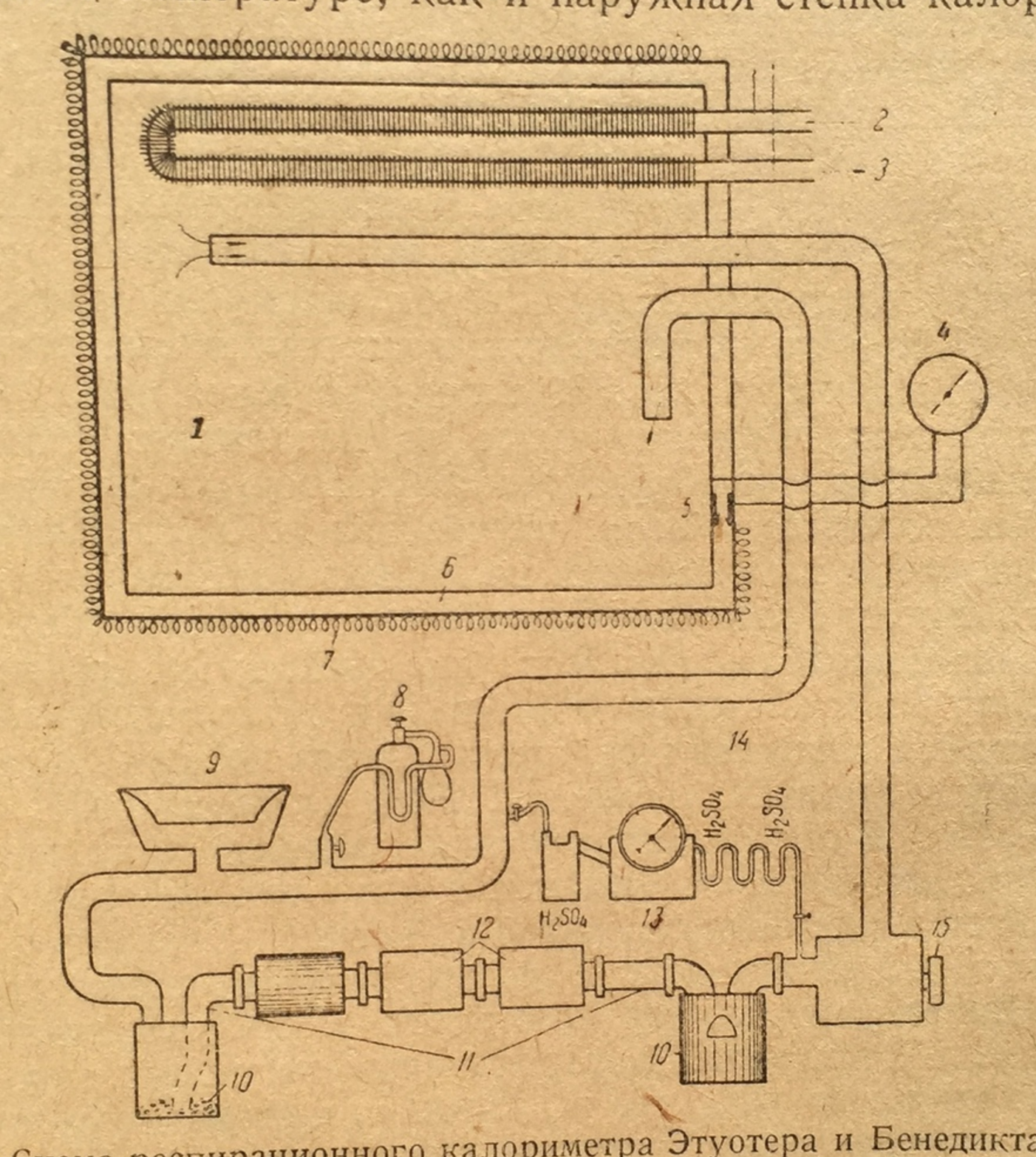


Рис. 10. Схема респирационного калориметра Этуотера и Бенедикта. (Составлена по рисункам и описаниям Бенедикта и Мильнера.)

1—респирационная камера; 2,3—ток воды для удаления и определения количества тепла; 4—гальванометр; 5—термоэлемент; 6—воздушное пространство; 7—нагревательная обмотка для предотвращения охлаждения; 8—кислород; 9—резиновая пластинка для регулирования давления; 10—серная кислота; 11—главный ток для поглощения и определения выдыхаемых CO_2 и воды; 12—натронная известь; 13—газовый счетчик; 14—ответвление для анализа воздуха камеры; 15—вентилятор.

ческой камеры, в которой находится человек. Регуляция температуры осуществляется автоматически, посредством введенных между стенками обеих камер термопар. Как известно, тело теряет тепло лишь при условии различия температур его самого и окружающей среды. Совершенно очевидно, что если температура камеры и окружающего ее пространства поддерживается на одном и том же уровне, то камера совершенно не будет терять тепла. Иначе говоря, нагреватели наружной камеры пополняют теплоту внутренней камеры точно с такой же скоростью, с какой идет отдача этого тепла стенками внутренней камеры. Теплоте, выделяемой испытуе-

мым субъектом, не дают возможности повышать температуру внутренней камеры; эту теплоту уводят наружу и там измеряют, пользуясь так называемым принципом «постоянного тока». Для этого через камеру по системе трубок с радиаторами циркулирует вода, нагреваемая тем теплом, которое выделяет находящийся в камере субъект. Скорость тока воды измеряют, и устанавливают температуру воды, входящей в камеру и выходящей из нее. На основе этих определений можно установить, что за известный промежуток времени некоторая масса воды нагрелась на определенное число градусов; легко рассчитать, какое количество килограммов воды могло бы быть нагрето на один градус, а проделав это вычисление, мы просто получаем теплопродукцию исследуемого лица, выраженную в калориях. Разумеется, при конструировании такого калориметра необходимо предусмотреть приспособления, которые позволяли бы вводить в камеру кислород, по мере того как испытуемый потребляет его, а также для поглощения выделяемой углекислоты и водяных паров. Кислород вводится из цилиндра, и количество газа, израсходованное на протяжении опыта, определяется путем взвешивания цилиндра на прочных, но очень чувствительных весах, до и после употребления. Углекислоту и воду измеряют, просасывая воздух из камеры через заранее взвешенные поглотители с натронной известью и серной кислотой. Так как каждый опыт продолжается несколько дней, то камера снабжается столом, стулом и кроватью (а в Америке даже телефоном); кроме того, имеются специальные затворы, через которые можно подавать пищу и удалять выделения. Количество энергии, содержащееся в каждой составной части пищи, а также то количество, которое осталось неиспользованным в кале или выделено с мочой, определяют путем сжигания проб этих материалов (после предварительного высушивания, где это требуется) в калориметрической бомбе. Далее учитываются количества тепла, затрачиваемые на испарение той части воды, которая покидает камеру в виде водяных паров, количество веществ, выделяемых субъектом с потом (для этого анализируют воду, в которой вымачивается его белье по окончании опыта), а также возможные небольшие различия в температуре воздуха в камере в начале и в конце опыта и всякую потерю или прибыль в весе испытуемого субъекта. Таким путем удается вывести чрезвычайно точный баланс количеств энергии, поступающих в камеру за определенный промежуток времени и покидающих ее за тот же самый период. При этом оказывается, что чем тщательнее ведутся наблюдения, тем ближе совпадают обе эти величины. В одной из лучших серий опытов самого Бенедикта расхождение составляло всего 0,1%—поистине изумительно точный результат, если принять во внимание, что в данной серии опытов измерения энергетического баланса продолжались почти целых шесть месяцев. В одной части этих опытов исследуемое лицо находилось в состоянии полного физического покоя; в других случаях выполнялась определенная работа путем приведения в движение укрепленного в камере велосипеда; результат в обоих случаях был со-

вершенно одинаков в смысле точности. Независимо от того, выполнял ли человек наименьшее возможное количество работы или, наоборот, наибольшее, на какое он был способен,—все равно количество энергии, освобождающейся в его теле в результате окисления определенного количества пищевых веществ, в пределах той точности, с какой могли проводиться измерения, соответствовало тому количеству тепла, которое получилось бы при сжигании того же количества тех же пищевых веществ в бомбе калориметра. Следовательно, живой организм не обладает никакими преимуществами в смысле возможностей использования энергии: он не может получить из своей пищи больше энергии, чем ее освободилось бы при сжигании в неживой машине.

С другой стороны эти опыты показывают, что если энергия не создается в живом веществе, то она в нем и не исчезает; если в организме окисляется 1 г жира, белка или углевода, то всегда выделяется в точности то же количество тепла, какое получилось бы при сгорании этих же веществ до тех же конечных продуктов вне организма. Другими словами, ничто из химической энергии пищевых веществ не утрачивается в организме при превращении сперва в механическую энергию, а затем—в тепло. Энергия сохраняется совершенно в такой же мере, как и в неживых образованиях, и закон сохранения энергии в совершенно такой же мере приложим к живым существам, как и к неживой природе, их окружающей. Больше того, одним из ранних указаний на самое существование закона сохранения энергии явилось наблюдение, согласно которому у жителей теплых стран венозная кровь более алая и, следовательно, богаче кислородом, чем у обитателей северных областей. Это указывает на то, что в жарком климате меньшая часть кислорода артериальной крови потребляется на осуществление тканевых процессов окисления, так как здесь меньше теряется тепла в окружающую среду, а следовательно, меньше потребность в теплопродукции. Отсюда напрашивается заключение, что определенной интенсивности окисления соответствует всегда одно и то же количество выделяющейся энергии и что единственным путем регуляции теплопродукции является регулирование протекающих в организме окислительных процессов.

Мы видим, таким образом, что организм для поддержания своей жизни неспособен создать заново хотя бы ничтожную часть той энергии, которая требуется для его существования. Он неспособен также уничтожить даже самую малую часть той энергии, которая воздействует на него из окружающей среды, как бы вредно ни оказывалось ее воздействие. Все существование живого существа определяется теми же самыми неуклонными законами, которые управляют явлениями неживой природы.

Все изложенные закономерности имеют чрезвычайно важное значение, ибо они составляют основу науки диэтетики. С одной стороны, они дают нам возможность сказать, сколько энергии может получить организм при использовании известного количества того или иного пищевого вещества; мы знаем теперь, что это будет в точ-

ности то же самое количество, которое выделится в виде тепла при сжигании данного пищевого вещества в бомбе калориметра. Если выразить это в более ясной в практическом отношении форме, то мы скажем, что количество энергии, получаемой из пищи, равно тому количеству, которое получается при сжигании ее в калориметрической бомбе, за вычетом энергии, еще остающейся в тех конечных продуктах, которые образуются при превращениях данного пищевого вещества в организме и удаляются из него с выделениями. С другой стороны, изложенные выше закономерности позволяют нам вычислить количество энергии, израсходованной организмом за определенный промежуток времени, на основании учета сгоревших за это же время пищевых материалов, а это мы в свою очередь можем сделать, измерив количество образовавшихся конечных продуктов обмена—воды, углекислоты и мочевины.

Для иллюстрации указанных возможностей чрезвычайно поучительно составить расчет количества потребляемых человеком калорий. Это может быть произведено над самим собой при условии, что в распоряжении имеются приспособленные для взвешивания человека весы, лучше всего такие, где отсчет производится прямо по указателю, без применения гирь. В течение суток, пока длится опыт, пища подается испытуемому на отдельных тарелках, предварительно взвешенная; пищи можно потреблять сколько угодно, и второе взвешивание тарелки прямо дает количество потребленного пищевого вещества. Так находят и общее количество данного пищевого вещества, потребленное за сутки. Ниже (стр. 129) в таблице даны сведения о среднем составе различных, наиболее употребительных пищевых продуктов. Эти данные относятся к усвояемой части этих продуктов; содержание же воды, солей и неперевариваемого материала в расчет не принимается. Пользуясь этими данными, легко подсчитать, сколько потреблено за сутки белков, жиров и углеводов, а затем подытожить общее количество полученных калорий, пользуясь теми величинами теплоты сгорания, которые получены посредством сжигания в калориметрической бомбе. Последние величины таковы:

1 г белка	4,3	больш. калории
1 » углевода	4,2	» »
1 » жира	9,3	» »

Теплоты сгорания для различных белков будут не совсем одинаковыми, как и для различных жиров и углеводов, но для практических целей вполне возможно пользоваться приведенными цифрами. Надо отметить, что в калорийный коэфициент белков мы ввели поправку на теплоту сгорания мочевины, образующейся из них в процессе обмена. При полном сжигании до углекислоты, воды и азота белок дает в среднем 5,6 калорий на грамм.

Состав пищевых продуктов

В приводимой ниже таблице дается процентное содержание белков, жиров и углеводов в усвояемой части каждого про-

	Белок	Жир	Углеводы
	(в процентах)		
Мясные продукты			
Грудинка свиная, жирная	1,9	87,7	—
» » тощая	19,3	11,6	—
Говядина, задняя часть, тощая	21,9	7,3	—
» тонкий край	20,0	16,5	—
Почки	18,1	2,6	—
Печенка	19,9	3,2	4,4
Сало	1,2	93,3	—
Цыпленок, филе	24,6	0,2	—
Ветчина тощая	20,3	12,3	—
Барашек молодой, передняя нога	18,7	8,7	—
Баранина, задняя нога, тощая	21,1	7,0	—
Свинина, тощая	21,4	11,1	—
Телятина, задняя нога	20,4	2,7	—
Рыба			
Треска	17,5	0,1	—
Сельдь свежая	18,6	10,9	—
Макрель	19,1	10,7	—
Палтус	15,7	2,0	—
Лососина	18,6	15,8	—
Молочные продукты			
Масло	—	81,6	—
Сыр чедер	25,2	33,4	—
Яйца без скорлупы	12,3	11,26	—
Лярд (сало топленое)	—	100,0	—
Маргарин (в среднем)	0,2	84,8	—
Молоко	3,3	3,6	—
Овощи			
Земляная груша	1,9	0,03	17,4
Бобы вареные	6,1	0,2	14,1
Фасоль	1,9	0,1	4,8
Свекла	1,2	0,1	6,2
Капуста	1,45	0,1	6,3
Морковь	1,2	0,1	9,6
Цветная капуста	1,9	0,2	5,9
Салат	1,1	0,2	1,9
Зеленый горошек, вареный	0,4	0,04	5,0
Лук испанский	0,6	0,04	4,1
Пастернак	1,7	0,5	21,1
Картофель молодой, вареный	1,4	0,01	19,7
» старый	1,9	0,02	16,0
Шпинат	1,7	0,1	2,6
Репа	1,2	0,1	4,4
Фрукты			
Яблоки	0,3	0,2	12,5
Бананы	1,6	0,1	27,4

Продолжение таблицы

	Белок	Жир	Углеводы
	(в процентах)		
Апельсины	0,8	0,1	8,8
Груши	0,3	0,1	8,1
Сливы	0,4	0,3	10,0
Злаки			
Хлеб белый	6,3	0,1	47,1
Мука	11,1	1,3	76,1
Овсянка	13,1	6,5	69,5
Рис	6,5	0,4	80,8
Ячневая крупа	9,8	1,1	77,7
Макароны	12,8	0,2	75,5
Сахар и сладости			
Какао	18,1	26,8	40,3
Патока	0,3	—	76,4
Варенье клубничное	0,3	—	66,4
Мармелад	0,2	—	68,6
Сахар кусковой, песок и пр.	—	—	100,0

дукта; остаток, состоящий из воды, минеральных солей и неусвояемого материала, не учитывается.

Основываясь на этих данных, читатель легко сможет высчитать, какое количество калорий он получает за сутки с пищей. Но для того чтобы знать, является ли это достаточным для снабжения его необходимой энергией, необходимо определить фактическое количество энергии, расходуемое организмом за сутки. Оно отнюдь не будет обязательно равно количеству, поступившему с пищей, так как, с одной стороны, организм располагает возможностями, позволяющими откладывать в виде запасов (жира или гликогена) поступающий в избытке горючий материал, а с другой—он может черпать энергию за счет этих запасов или даже за счет собственных тканей, если в течение некоторого времени приток энергетического материала извне оказывается недостаточным. Как мы видели, общее количество расходуемой энергии может быть измерено посредством калориметра Этуотер-Бенедикта. Однако лишь немногие учреждения располагают этой весьма дорогой аппаратурой. Гораздо удобнее исследовать количество вырабатываемой энергии у лица, выполняющего при обычных условиях ту или иную работу, учитывая конечные продукты сгорания, образующиеся в организме. Как мы видели, это можно делать с полным правом, поскольку к организму животного вполне приложим закон сохранения энергии. Все, что нам нужно знать,—это количество углекислоты и воды, образовавшихся за определенный промежуток времени. Учитывать выделение углекислоты очень легко, для

этого надо только иметь приспособления для собирания и анализа выдыхаемого воздуха. Учет образующейся в организме воды представляет значительные трудности, так как вода выделяется из организма различными путями. Поэтому вместо учета воды измеряют количество поглощенного кислорода. Зная количество углекислоты, легко узнать, какая часть кислорода пошла на окисление углерода органических составных частей пищи; ясно, что остальная часть пошла на окисление водорода. Таким образом, становится известно количество окисленного водорода, т. е. воды. Следовательно, задача определения общего количества энергии, продуцируемой в теле животного за определенный промежуток времени, сводится к определению поглощенного кислорода и выделенной углекислоты за тот же период времени. Это то, что мы называем измерением общего дыхательного газообмена.

Таким путем мы можем определить количество углерода и водорода, окисляемых за одну минуту в организме. Но для того, чтобы на основании этих данных вычислить количество освобождающейся при этом энергии, необходимо принять во внимание, что окислению подвергаются не элементарный водород и углевод, а построенные из них молекулы углеводов, белков и жиров. Поэтому на основе измерений газообмена необходимо вычислить, какое количество каждого из этих веществ сгорает в теле, а отсюда определить уже количество образующихся калорий, пользуясь данными теплот сжигания, приведенными нами выше. Произвести такие расчеты возможно потому, что разное относительное содержание водорода и углерода в различных пищевых веществах обусловливает неодинаковое потребление кислорода для образования углекислоты. Нужно помнить, что объем образовавшегося углекислого газа как раз равен объему кислорода, затраченного на окисление углерода пищевых веществ. Отношение:

$$\frac{\text{объем образовавшейся углекислоты}}{\text{объем потребленного кислорода}}$$

дает нам представление о том, какая часть из общего количества потребленного кислорода пошла на окисление углерода. Это отношение известно под названием дыхательного коэфициента. На нескольких примерах мы покажем, каким образом, зная эту величину, можно определить, какой вид пищевых веществ в каждый данный момент подвергается окислению в организме. Рассмотрим прежде всего случай сгорания глюкозы. Каковы бы ни были промежуточные стадии этого процесса, конечными продуктами окисления будут углекислота и вода; процесс их образования может быть представлен следующим уравнением:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 = 6CO_2 + 6H_2O.$$

Из него мы видим, что на каждую молекулу потребленного кислорода образуется одна молекула угольного ангидрида. Следовательно, поскольку одинаковое количество молекул всех газов

занимает один и тот же объем, на каждый кубический сантиметр потребленного кислорода образуется один кубический сантиметр углекислоты. Далее, так как глюкоза уже содержит в составе своей молекулы такое количество кислорода, которого было бы достаточно для окисления всего содержащегося в ней водорода до воды, то для полного окисления глюкозы нужно получить извне лишь то количество кислорода, которое требуется для соединения с ее углеродом. Конечно, не следует думать, что все атомы кислорода, содержащиеся первоначально в молекуле глюкозы, фактически окажутся только в составе образовавшейся воды и совершенно не пойдут на образование углекислоты. Мы представили взаимоотношение в таком виде лишь для того, чтобы легче было рассчитать то количество кислорода, которое требуется для полного окисления глюкозы. Если, как мы указывали, объем кислорода, необходимый для образования некоторого объема углекислоты, равен объему самой этой углекислоты, то отсюда следует, что если бы в организме подвергалась окислению одна только глюкоза или любой другой углевод, то дыхательный коэфициент был бы равен единице. Изучая обмен мышцы, мы видели, что исходным горючим материалом в организме служит гликоген. Если мы представим его окисление следующим уравнением:

$$(C_6H_{10}O_5)_n + 6nO_2 = 6nCO_2 + 5nH_2O,$$

то мы сразу увидим, что и в этом случае дыхательный коэфициент будет равен единице.

В качестве следующего примера рассмотрим окисление тристеарина.

Молекулярная формула его, если сложить количества всех атомов углерода, кислорода и водорода, будет $C_{57}H_{110}O_6$, и при полном его окислении мы получим:

$$C_{57}H_{110}O_6 + 81{,}5O_2 = 57CO_2 + 55H_2O.$$

В этом случае мы прежде всего видим, что материал, который служит горючим, содержит очень мало кислорода; молекулы жира почти целиком состоят из углерода и водорода. Именно в силу этого на 1 г жира при его сгорании освобождается значительно больше энергии, чем при сгорании такого же весового количества белка или углевода; можно сказать, что жир почти целиком состоит из горючего материала, между тем как углеводы содержат значительное количество кислорода, а белки—много азота. Далее, того небольшого количества кислорода, которое содержится в молекуле, могло бы хватить разве лишь для окисления очень небольшой части всех атомов углерода и водорода. Поэтому здесь приходится доставлять кислород для окисления почти всего количества водорода и углерода, имеющегося в составе жира. Если бы в организме подвергался окислению только жир, то лишь часть потребляемого кислорода появилась бы в составе образующегося углекислого газа, а другая часть пошла бы на образование воды. Отношение общего объема потребленного кислорода к объему выделившейся

углекислоты было бы поэтому ниже единицы. Из только что приведенного уравнения мы можем вычислить, какова была бы точная величина дыхательного коэфициента при окислении тристеарина. На каждые 81,5 объемов кислорода, пошедших на окисление, 57 объемов появились бы в конечном счете в виде углекислоты. Дыхательный коэфициент при окислении тристеарина был бы, следовательно, равен $\frac{57}{81,5}$, что равно почти в точности 0,7.

Зная, что дыхательный коэфициент для углеводов равен 1, а для жиров 0,7, можно в каждом отдельном случае, допустив, что сгорают только эти два рода веществ, рассчитать по величине дыхательного коэфициента относительные количества этих веществ, подвергающихся окислению.

Принцип такого рода расчета станет яснее, если мы возьмем конкретный числовой пример.

Допустим, что при определении дыхательного коэфициента мы получили величину 0,95.

Обозначим через x объем кислорода в литрах, который идет за определенный промежуток времени на окисление жира, а через y обозначим объем кислорода, расходуемый на окисление углеводов за то же самое время.

Общее потребление кислорода будет, следовательно, $(x+y)$ литров.

Поскольку дыхательный коэфициент при окислении жира равен 0,7, то объем CO_2, образовавшейся за это время за счет жира, будет равен $0,7\,x$ литров.

Совершенно так же, поскольку дыхательный коэфициент для углеводов равен 1, мы заключаем, что объем CO_2, образовавшейся за то же время в результате окисления углеводов, будет $1,0\,y$ литров.

Общее количество образовавшейся углекислоты будет, следовательно, $(0,7\,x+1,0\,y)$ литров.

Отсюда дыхательный коэфициент нашего субъекта может быть представлен выражением:

$$\frac{0,7\,x+1,0\,y}{x+y},$$

а эта величина, как мы указали вначале, в нашем частном случае была определена равной 0,95.

Из уравнения

$$\frac{0,7\,x+1,0\,y}{x+y}=0,95$$

мы легко находим, что $y=5\,x$. Иначе, мы можем сказать, что на каждый литр кислорода, используемого данным лицом для окисления жира, одновременно используется 5 л для окисления углеводов, т. е. из каждого литра потребляемого кислорода $^5/_6$ л идет на окисление углеводов, а остальная $^1/_6$—на окисление жира.

Из тех уравнений, которые мы приводили несколько выше, вытекает, что на окисление каждой доли гликогена $(C_6H_{10}O_5)_n$, т. е. на 162 г его, идет 6 грам-ммолекул кислорода, т. е. $6\times22,4$ л его.

$^5/_6$ литра кислорода окисляет $^5/_6\times\frac{162}{6\times22,4}=1,004$ г гликогена, что при калорийном коэфициенте в 4,2 калории на грамм дает 4,22 больших калории.

Совершенно таким же образом, принимая, что окисляемый жир является тристеарином, мы находим, что $81,5\times22,4$ л кислорода могут окислить одну грамм-молекулу жира, что соответствует 890 г его.

Отсюда: $^1/_6$ л кислорода окисляет: $^1/_6\times\frac{890}{81,5\times22,4}=0,081$ г жира; при теплоте сгорания в 9,3 калории на грамм это дает 0,76 больших калорий.

В итоге общее количество энергии, выделяющееся на литр потребленного кислорода при дыхательном коэфициенте, равном 0,95, составляет:

$$4{,}22 + 0{,}76 = 4{,}98,$$

или, в круглых цифрах, 5 калорий на литр кислорода.

Совершенно аналогичным путем можно вычислить количество энергии, освобождающейся на литр потребленного кислорода при любом другом дыхательном коэфициенте. Интересен тот случай, когда мы имеем дыхательный коэфициент, равный 0,85, т. е. лежащий как раз посредине между величинами для углевода (1,0) и для жира (0,7). В этом случае, как читатель может убедиться и сам, объем кислорода, идущий на окисление углевода, равен объему, расходуемому на окисление жира, так что эти вещества будут окисляться в отношении $\frac{162}{6 \times 22{,}4} : \frac{890}{81{,}5 \times 22{,}4}$, что составит 2,47 части углевода (гликогена) на 1 часть жира.

На практике, когда желают по измерению общего газообмена судить об энергетическом балансе, нет никакой необходимости производить все эти вычисления. Калорический эффект 1 л кислорода был вычислен раз навсегда для всех величин дыхательного коэфициента вышеизложенным способом, и соответствующие данные приводятся в виде таблиц в справочниках. В зависимости от того, какие именно величины теплот сгорания принимать для гликогена и жира, данные для калорийного эффекта кислорода могут иметь несколько разные значения. Мы приведем здесь цифры, даваемые Цунцем и Леви:

Дыхательный коэфициент	Калорийный коэфициент литра кислорода, затрачиваемого на окисление смеси жира и гликогена
0,71	4,795
0,75	4,829
0,80	4,875
0,85	4,921
0,90	4,967
0,95	5,012
1,00	5,058

Следует отметить, что в том случае, когда сжигают гликоген, на каждый литр потребленного кислорода освобождается почти ровно 5 калорий; с повышением относительного содержания жира в пище эта величина несколько снижается. При тех условиях, которые обычно соблюдаются во время измерения общего энергетического баланса человека, можно с достаточным приближением принять, как это было нами сделано выше при наших вычислениях, что работа организма поддерживается за счет сгорания только углеводов и жиров, окислением же белков как таковых можно пренебречь.

Для этого исследование проводят спустя довольно продолжительное время после последнего приема пищи, так чтобы закончилось не только переваривание и всасывание, но также и дезаминирование аминокислот и превращение их в углеводы. Как правило, опыт производят утром, натощак. В тех случаях, когда в целях наибольшей точности или по другим причинам представляется необходимым принять в расчет и количество окисленного в теле белка, это легко можно сделать, определив по методу Кьельдаля общее количество азота, выделенного с мочой за данный отрезок времени. Соответственно среднему содержанию азота в белке, найденное количество азота соответствует окислению в теле 6,25-кратного количества белка. Зная, далее, общий состав белка, можно вычислить, сколько кислорода было затрачено на окисление этого количества и сколько при этом образовалось угольной кислоты. Дыхательный коэфициент белка, найденный таким образом, лежит около 0,8, и каждый грамм выведенного из тела азота соответствует потреблению 5,9 л кислорода, причем освобождается 26,5 калорий.

Вычитая из общего количества образовавшейся углекислоты и потребленного кислорода те количества этих газов, которые приходятся на долю белкового обмена, мы получаем величины для «небелкового обмена» и его дыхательный коэфициент. Отсюда уже мы вычисляем так, как было описано выше, относительные количества окисленных жиров и углеводов. Таким образом, мы получаем исчерпывающие данные для количества белков, жиров и углеводов, подвергшихся окислению в теле испытуемого; из них мы находим количество энергии доставленной каждым из этих компонентов, а следовательно, и общее количество энергии, продуцируемой за время опыта.

Общее количество энергии, расходуемое субъектом за определенный промежуток времени, удобнее рассматривать как состоящее из двух частей. С одной стороны, это будет энергия, необходимая для поддерживания температуры тела в 37° и для осуществления таких процессов, как сердечная деятельность и дыхательные движения. Это количество энергии характеризует собой так называемый основной обмен, т. е. начальную величину энергетических затрат, ниже которой организм не может спуститься без нарушения своего нормального состояния. Сверх этого количества общий энергетический баланс будет включать всю ту энергию, которая была бы израсходована на выполнение какой-либо внешней физической работы. Возвращаясь к величине основного обмена, следует отметить прежде всего следующее обстоятельство. Поскольку основной обмен связан с поддержанием постоянной температуры тела, постольку он в каждом данном случае будет определяться размером теплопотерь испытуемого субъекта, а последние в свою очередь зависят от величины общей поверхности тела. Поэтому нельзя ожидать, что у разных лиц величина основного обмена будет одна и та же; постоянной будет величина основного обмена, отнесенная к единице поверхности тела. Так это в действительности и наблюдается у нормальных субъектов. Различными методами

поверхность тела нормального мужчины определена примерно в $1^3/_4$ м², у женщины она в среднем несколько меньше—около $1^1/_2$ м², а у ребенка 10 лет—около 1 м². Найдено, что нормальная величина основного обмена составляет за час приблизительно 40 больших калорий на 1 м² поверхности тела. Таким образом, за 24 часа взрослый мужчина на основные потребности организма расходовал бы $40 \times 1{,}75 \times 24 = 1\,680$, т. е. около 1 700 больших калорий. Для женщин соответствующая величина составляет около 1 400 больших калорий.

Само собой разумеется, что приведенные данные справедливы для субъекта, находящегося в помещении, нагретом до обычной комнатной температуры; всякие условия, ведущие к более быстрому охлаждению тела, неизбежно должны будут повысить приведенные цифры. Любопытно отметить, что указанная величина в 40 больших калорий на 1 м² поверхности тела характерна не только для человека, но с очень незначительными колебаниями и вообще для всех млекопитающих. Впрочем, это будет не так удивительно, если учесть, что все млекопитающие имеют примерно одну и ту же температуру тела. Но само собой разумеется, что при перечислении на единицу веса тела основной обмен у различных животных будет весьма значительно разниться, так как поверхность возрастает медленнее, чем вес, и, следовательно, чем меньше животное, тем относительно больше у него поверхность охлаждения. Следующая таблица, заимствованная у Фойта и Рубнера, может это иллюстрировать.

	Вес в кг	Расход калорий на 1 кг веса тела	За 24 часа на 1 м² поверхности тела
Лошадь	441	11,3	948
Свинья	128	19,1	1 078
Человек	64,3	32,1	1 042
Собака	15,2	51,5	1 039
Мышь	0,018	212	1 188

Однако, кроме поверхности тела, необходимо принимать во внимание и другие факторы; например, достаточно остричь овцу, чтобы поднять ее основной обмен вдвое. Это указывает, что в отношении теплорегуляции овца гораздо больше зависит от своего шерстного покрова, чем от изменения кровообращения в поверхностных сосудах кожи; у человека же теплоотдача телом регулируется именно этим путем.

Если вернуться к тем условиям, которые мы встречаем у человека, то следует отметить, что, помимо чисто теоретического интереса, определение основного обмена находит применение в качестве весьма ценного в медицинском отношении метода, ибо величина основного обмена подвержена существенным колебаниям

под влиянием желез внутренней секреции. Поэтому измерение основного обмена оказывает ценные услуги для клинического диагноза при различных заболеваниях эндокринной системы. Наиболее отчетливо это проявляется в отношении щитовидной железы, гормон которой, тироксин, обладает весьма сильным стимулирующим действием на основной обмен. При так называемом обычном з о б е, представляющем собой увеличение щитовидной железы на почве недостатка иода, количество вырабатываемого тироксина падает ниже нормы, и соответственно понижается основной обмен: сходное явление отмечается при летаргических состояниях. С другой стороны, при так называемой б а з е д о в о й б о л е з н и секреция щитовидной железы ненормально повышена, быть может изменена и качественно, и в результате основной обмен может достичь величин, вдвое превышающих нормальные; это сопровождается общим беспокойным состоянием больного. Изменения в деятельности мозгового придатка также сопровождаются изменениями в основном обмене, но в этих случаях отклонения от нормы обычно не превышают 20%. Разумеется, во всех этих случаях имеет значение не общая величина обмена у пациента, а величина, отнесенная к 1 м² поверхности тела. Для того чтобы ее измерить, в настоящее время нет надобности непосредственно измерять поверхность тела исследуемого лица. На основе весьма многочисленных измерений установлена статистическая зависимость между величиной поверхности тела, весом и ростом человека. Благодаря этому, зная вес тела и рост, можно вычислить величину поверхности тела посредством следующей формулы:

$$A = W^{0,425} \times H^{0,725} \times 0,007184,$$

где A—искомая поверхность в квадратных метрах, W—вес тела в килограммах и H—рост в сантиметрах.

Еще проще найти требуемую величину, пользуясь раз навсегда составленными таблицами и графиками, находящимися в соответствующих руководствах и справочниках.

Прежде чем перейти к дальнейшему изучению энергетического обмена организма, следует подчеркнуть, что в некоторых случаях приведенные выше рассуждения оказываются неприложимыми вследствие того, что под влиянием нарушающих нормальные условия внешних факторов дыхательный коэфициент перестает быть надежным указателем природы веществ, подвергающихся окислению в организме. Так, например, у диабетика дыхательный коэфициент обычно значительно ниже, чем это соответствовало бы фактически протекающим в теле окислительным процессам. Это отчасти обусловлено выделением ацетоуксусной и оксимасляной кислот, образование которых сопровождается потреблением кислорода без соответствующего выделения углекислоты, а отчасти вызвано усиленным превращением аминокислот в сахар. Этот процесс тоже требует потребления кислорода, так как кислорода в молекуле сахара содержится гораздо больше, чем в аминоки-

слоте. Но сахар этот выделяется с мочей; он не сгорает до воды и CO_2. Поэтому величина $\frac{CO_2}{O_2}$ опять-таки уменьшается.

Нечто подобное наблюдается у животных, погружающихся в зимнюю спячку,—у сурка или суслика. Во время спячки они поглощают большое количество кислорода, значительная часть которого расходуется не на окисление, а идет на превращение в гликоген того жира, который был отложен в теле в виде запасов. Интенсивность последнего процесса может быть так значительна, что вес тела животного увеличивается, хотя в состоянии спячки оно никакой пищи не принимает. И в этом случае в результате поглощения кислорода без соответствующего выделения углекислоты мы имеем весьма низкий дыхательный коэфициент, который может достигать 0,3. С другой стороны, в течение лета животное откладывает в теле обильные запасы жира за счет углеводов пищи. Эти последние содержат больше кислорода, чем жир, в который они превращаются в теле, так что часть его освобождается в организме, и для покрытия потребности идущих в теле окислительных процессов животному нужно поглощать меньше кислорода, чем обычно. В результате отношение $\frac{CO_2}{O_2}$ обнаруживает тенденцию повышаться и достигает величин, превышающих единицу. Из этих примеров ясно, что судить по величине дыхательного коэфициента о природе окисляющихся в теле питательных веществ можно лишь в том случае, если есть уверенность, что эти окислительные процессы идут до своего нормального конца, т. е. до образования воды и углекислоты, а не останавливаются где-либо на промежуточных ступенях.

Но в подавляющем большинстве случаев такое заключение о природе окисляющихся в теле веществ на основании величины дыхательного коэфициента представляется вполне допустимым. Мы остановились так подробно на этом способе вычисления энергетического расхода по общему размеру газообмена потому, что он очень часто применяется. Лишь в единичных случаях, в специально оборудованном лечебном заведении может быть проведено прямое измерение энергетических затрат в калориметре типа Этуотер-Бенедикта. На практике всегда пользуются методом косвенной калориметрии, так нак несравненно легче построить герметическую, газонепроницаемую камеру для исследования дыхательного газообмена, чем сконструировать камеры с постоянной температурой для прямого измерения баланса энергии. Описывая камеру Этуотер-Бенедикта, мы упоминали о том, какого типа аппараты применяются для измерения дыхательного газообмена, но следует добавить, что имеются значительно более простые приспособления, позволяющие проводить кратковременные опыты. В этом случае удобнее измерять количества потребленного кислорода и выделенной углекислоты обычными приемами объемного газового анализа, а не весовым методом, как в приборе Этуотер-Бенедикта. Для наиболее точных измерений обычно

помещают исследуемого субъекта в герметическую камеру, через которую пропускают ток воздуха посредством точных газовых часов (газовые часы, если их привести в движение мотором, действуют как воздушный насос). Зная число оборотов и объем газа, подаваемого при каждом обороте, можно легко и с большой точностью вычислить количество воздуха, прошедшее через камеру. Из выходящего воздуха отбирают среднюю пробу и анализируют ее. Такому же анализу подвергают пробу входящего воздуха, который обычно является просто атмосферным воздухом. Нет необходимости точно измерять объем поступающего в камеру воздуха: как правило, этот объем будет несколько больше того, который выходит из камеры, за исключением лишь того случая, когда находящийся в камере субъект выделяет ровно столько же углекислоты, сколько потребляет кислорода, т. е. при дыхательном коэфициенте, точно равном единице. Можно точно определить этот объем, основываясь на вполне допустимом предположении, что количество азота, проходящего через камеру, остается неизменным; тогда определив, как мы это делаем путем газового анализа, общий объем азота, выходящего из камеры, и зная его процентное содержание в поступающем в камеру воздухе, мы легко вычислим, какой объем воздуха с содержанием того же объема азота поступил в камеру. Таким путем мы устанавливаем объемы кислорода и углекислоты, поступившие в камеру, и количества этих газов, покидающих ее; отсюда непосредственно устанавливается количество кислорода, потребленного субъектом, и количество выделенной им углекислоты.

Другой метод для определения тех же величин, несколько менее точный, но требующий гораздо менее сложного оборудования, заключается в том, что испытуемое лицо дышит через систему клапанов, устроенных так, что весь выдыхаемый за определенный промежуток времени воздух собирается в воздухонепроницаемый брезентовый мешок, выстланный внутри резиной; мешок этот назван по имени его изобретателя мешком Дугласа. Небольшая проба выдохнутого воздуха, взятая из мешка, подвергается анализу, а общий объем содержащегося в мешке воздуха определяют, пропуская воздух через газовые часы. Вдыхаемый воздух тоже анализируют и объем его вычисляют на основании содержания азота, как только что было описано.

По сути дела разница между двумя изложенными выше методами состоит только в том, что во втором случае анализируется выдыхаемый воздух, а в первом случае—смесь выдыхаемого воздуха и воздуха, содержавшегося в камере. Для клинических целей определение общего дыхательного обмена было еще значительно упрощено введением в практику аппарата, предложенного Крогом. Нередко, особенно у пациентов, не привыкших к опытам по газообмену, наступающее при этом возбуждение вызывает усиление дыхательных движений, что в свою очередь сопровождается ускоренным удалением из крови содержащейся в ней в довольно значительных количествах слабо связанной углекислоты; в результате

наблюдаемое выделение углекислоты может оказаться значительно бо́льшим, чем количество фактически образовавшейся за данный отрезок времени. Поэтому Крог устанавливает дыхательный коэфициент на некоторой определенной величине, давая пациенту, начиная с дня, предшествующего опыту, диэту строго определенного состава (что в больничных условиях сделать нетрудно) и принимая, что именно содержащиеся в ней пищевые вещества будут подвергаться окислению к моменту опыта, который проводится на следующий день натощак. Измерению в течение опыта подвергается только потребление кислорода, которое не зависит от интенсивности легочной вентиляции; зная, на основании соответствующих таблиц (см. выше) калорийную ценность литра кислорода при данном дыхательном коэфициенте, сразу можно получить представление о величине энергетического обмена. Применяемый при этом респирометр для измерения потребления кислорода устроен чрезвычайно просто: он состоит из плавающего резервуара с газом, движения которого регистрируются на вращающемся барабане. Резервуар с газом снабжен хорошо действующим приспособлением с натронной известью для задерживания углекислоты; перед началом определения резервуар наполняют кислородом, и исследуемый субъект вдыхает и выдыхает в резервуар, причем не требуется никаких клапанов. По мере того как идет потребление кислорода, запись движений резервуара на барабане все больше и больше понижается, и из наклона кривой непосредственно можно определить скорость потребления кислорода, пользуясь заранее составленными данными калибровки прибора.

Переходя теперь к вопросу об учете энергетических затрат при мышечной работе, можно сказать, что все описанные выше методы применимы и здесь. Можно заставить человека ехать на велосипеде-эргометре внутри калориметрической камеры; как мы видели, этим путем удается доказать справедливость закона сохранения энергии как при работе, так и в периоды покоя. Можно также устроить респирометрическую камеру таких размеров, чтобы в ней поместился велосипед, и измерять общий газообмен при выполнении указанного количества работы; из величин газообмена можно затем вычислить производительность живого организма. Однако чаще всего интересно измерить энергетические затраты организма при выполнении тех или иных повседневных видов работы, и притом в обычных условиях. В этом случае часто бывает невозможно выполнять данную работу внутри калориметрической или респирометрической камеры; здесь необходимо пользоваться таким аппаратом, который не мешал бы исследуемому лицу во время выполнения им данной работы. Для работы, выполняемой на воздухе, как, например, ходьба, бег, подъем на гору, удобен дугласовский мешок, который несут за плечами. Для работы сидячего характера Бенедикт помещает в респирометрическую камеру не всего субъекта, а лишь его голову. Эта камера имеет вид шлема, на открытый конец которого натянут большой резиновый купаль-

ный колпак. В этом колпаке вырезано отверстие таких размеров, чтобы через него могла пройти голова испытуемого, а затем вырез плотно герметически охватывает шею испытуемого. В стенке шлема имеется небольшое оконце со стеклом, через которое испытуемый может смотреть. Две трубки, припаянные с боков к этому шлему, присоединяют его к измерительным приборам.

Описанными выше методами было произведено множество измерений дыхательного газообмена у людей; вместе с тем эти измерения давали и представление о размерах энергетического обмена. Мы слишком отвлеклись бы от наших непосредственных задач, если стали бы углубляться в результаты этих исследований. Мы ограничимся лишь тем, что дадим их общую характеристику. Как мы видели, основной обмен у человека в состоянии покоя при обычной комнатной температуре равен приблизительно 1 700 калориям в сутки. Всякое напряжение, производимое человеком, будет на ту или иную величину повышать этот расход энергии соответственно тяжести выполняемой работы. Для человека, ведущего сидячий образ жизни, если он не выходит из дома, наблюдаемый прирост энергетического расхода составит около 500 калорий, так что общая суточная потребность выразится примерно в 2 200 калориях. Легкая работа, например, соответствующая труду садовника или огородника, дает общую затрату около 4 000 калорий. Наивысший расход энергии, повидимому, наблюдается у дровосеков, выполняющих очень тяжелый физический труд в условиях северных холодов; здесь общий расход энергии за сутки может достигать 8 000 калорий; впрочем, одному ретивому ездоку на велосипеде-эргометре удалось в условиях эксперимента побить даже и этот рекорд. Средняя величина для всего населения страны с его разнообразными формами работы может быть принята приблизительно равной 3 000 калорий в сутки. Здесь следует отметить, что практически приходится принимать во внимание только физическую работу, выполняемую человеком. При помощи своего калориметра Бенедикт показал, что умственная работа не вызывает заметного повышения энергетического обмена.

Исходя из этих данных и из имеющихся в соответствующих руководствах сведений о составе пищи, нетрудно выработать подходящую диэту для данного субъекта в соответствии с размерами его тела и с характером выполняемой им работы. Само собой разумеется, что диэта должна не только доставлять потребное количество калорий, но должна также включать необходимый минимум белков для поддержания азотистого равновесия (ср. гл. VI), а, кроме того, количество углеводов должно находиться в определенном отношении к количеству жиров, чтобы предотвратить образование ацетоновых тел (ср. гл. XI). Наконец, пища должна обеспечивать необходимые количества неорганических солей, а также и витаминов, о которых мы еще будем говорить дальше (гл. XIV).

При составлении такой диэты обычно сверх найденного по расчету необходимого суточного количества калорий накидывают еще около 10%. Это делается не только для того, чтобы покрыть

энергетический расход, обусловленный работой секреторных и пищеварительных органов, но еще и потому, что всасывающиеся из кишечника продукты пищеварения, в частности, аминокислоты, обладают стимулирующим действием по отношению к окислительным процессам в организме в целом. Это явление известно под названием специфически-динамического действия пищи. Оно более всего выражено в период всасывания аминокислот, образовавшихся при переваривании белков: так как обычно при опытах по измерению обмена берут субъекта в тот период, когда всасывание уже закончилось, то величина энергетических потерь, обусловленных специфически-динамическим действием, оказывается не включенной в определение общей энергетической потребности.

В настоящее время мы еще не знаем причин явления специфически-динамического действия. Возможно, что некоторой затраты энергии требует протекающее в тканях дезаминирование аминокислот; или, может быть, аминокислоты сами по себе или образовавшиеся из них продукты внутренней секреции влияют на клеточный обмен и вызывают более интенсивное окисление углеводов и жиров. Но каково бы ни было окончательное решение этого вопроса, остается несомненным, что в присутствии избытка аминокислот усиливается сгорание других составных частей пищи. Избыточная энергия, освобождающаяся при этом, не будучи использована для выполнения механической работы, оказывается потерянной для организма и выделяется в виде тепла.

Само собой разумеется, что для изучения организма, в котором идут превращения энергии, первостепенное значение имеет возможность учета протекающих в тканях процессов окисления; эта возможность дается, как мы видели, измерением общего газообмена организма. Во времена Либиха было распространено мнение, что для осуществления механической работы энергия черпается за счет окисления белков, между тем как сгорание углеводов и жиров служит лишь для выработки тепла и поддержания постоянной температуры тела. Но такие представления могли держаться лишь до тех пор, пока не были выработаны точные методы определения азота в моче. Применение их показало, что при выполнении работы определенной тяжести в организме сгорало гораздо больше органических веществ, чем это соответствовало бы выделившемуся за данный промежуток азоту. Классический опыт такого рода был выполнен еще в 1865 г. Фиком и Вислиценусом, которые измерили количество азота, выделившееся при восхождении на горную вершину Фаульгорн. Зная среднее содержание азота в белке, они могли подсчитать, какому количеству белка соответствовал выделенный ими с мочой азот. Для Вислиценуса эта величина составила 37 г. Мы знаем, что количество энергии, которое может получиться при сгорании 1 г белка в организме, составляет 4,3 калорий; так как одна калория эквивалентна 425 кг/м работы, то общее количество энергии, которое Вислиценус мог бы получить за счет окисления белка, составляет $37 \times 4{,}3 \times 425 =$

=68 000 кгм. Вес Вислиценуса был 76 кг, и при восхождении он поднялся на высоту 1 956 м. Следовательно, он совершил работу, равную 76×1 956=148 656 кгм. Даже если принять, что вся энергия сгорания белков превращается в механическую, т. е. что организм человека работает с коэфициентом полезного действия в 100%, то и в этом случае энергия, полученная за счет белков, составляет меньше половины общего затраченного количества. Совершенно ясно, что значительная часть ее должна была иметь источником другие, небелковые вещества.

Мы, следовательно, вправе заключить, что в качестве исходного источника энергии для мышечной работы могут служить как углеводы, так и жиры. Вопрос, в какой мере оба эти горючие вещества могут быть непосредственно использованы мышцей, остается еще нерешенным; что углеводы используются мышцей—это не подлежит сомнению; жир же, возможно, сначала превращается в углевод, и лишь последний служит подлинным «горючим» в мышечной ткани. Решить этот вопрос на основе измерения дыхательного коэфициента было бы невозможно, ибо в том и другом случае он в конечном счете оказался бы одним и тем же. Одно время рассчитывали подойти к ответу на этот вопрос, сравнивая путем измерения газообмена степень производительности работы, с одной стороны, при преимущественно углеводном питании, а с другой—при пище, содержащей большое количество жира. При этом исходили из следующих соображений. Если жир используется мышцами в качестве горючего непосредственно, то коэфициент полезного действия организма, т. е. то количество калорий, которое затрачивается на выполнение данного количества работы, будет при использовании жиров то же, что и при использовании углеводов. Если же жир сперва должен быть превращен в углеводы, то энергия этого превращения, составляющая 23% общего количества теплоты сгорания жира, должна была бы выделяться в виде тепла и оказывалась бы неиспользованной для выполнения механической работы; производительность организма должна была быть на 23% ниже, чем на углеводной диэте. Действительно, оказалось, что на жировой диэте производительность организма понижена, но, однако, лишь примерно на 11%; поэтому надежного заключения из этих опытов вывести нельзя. В недавнее время было найдено, что при избыточном обмене, наступающем при выполнении не слишком напряженной работы на протяжении короткого промежутка времени, дыхательный коэфициент часто оказывается практически равным единице. Это указывает на то, что мышцы работают целиком на углеводном топливе. Но если работа более продолжительна, то дыхательный коэфициент при этом избыточном обмене падает ниже единицы, указывая, что при этом используются—прямо или косвенно—также и жиры. Если выполняемая работа очень тяжела, то дыхательный коэфициент, который находят при избыточном обмене, может подняться даже выше единицы; это обусловлено тем, что молочная кислота, диффундирующая из мышц, вытесняет некоторое количество углекислоты из

бикарбонатов крови; в период покоя, следующий за выполнением такой работы, дыхательный коэфициент показывает соответственное понижение вследствие того, что образующаяся теперь угольная кислота, вместо того чтобы выделяться, затрачивается на восстановление нормального запаса бикарбоната в крови. Мы не можем здесь разбирать эти вопросы более подробно, но из того общего обзора, который мы дали, достаточно ясно видно, как много осложнений приходится предусматривать при истолковании данных газообмена, полученных при выполнении той или иной работы. Кажущаяся на первый взгляд простой проблема освобождения энергии при сгорании пищевых веществ в теле наталкивает нас на ряд вопросов, на которые мы еще не в состоянии дать надежный и исчерпывающий ответ.

ГЛАВА XIII

ФЕРМЕНТЫ И КАТАЛИЗАТОРЫ ОКИСЛЕНИЯ

Читатель, несомненно, обратил внимание на то, что, описывая различные химические процессы, протекающие в организме, мы во многих случаях отмечали, что эти процессы совершаются под влиянием особых агентов, называемых ферментами, или энзимами. Это особенно было очевидно при описании процессов пищеварения, где каждый этап зависел от действия ферментов, составляющих характерную составную часть пищеварительных соков. Очень часто химические отправления какого-либо органа удавалось разъяснить на основе изучения содержащихся в нем ферментов. Но до сих пор мы не останавливались на природе ферментов и на общей характеристике их действия, и настоящая глава преследует цель заполнить этот пробел.

Еще с глубокой древности человечеству были известны явления ферментации (брожения; от латинского fervere—кипеть) сахарных растворов, например, плодовых соков. Если оставить их в сосуде, не приняв никаких особых предосторожностей, то спустя некоторое время начинается брожение жидкости, выражающееся в образовании спирта и выделении угольного ангидрида, что создает картину кажущегося кипения (отсюда и происходит название). С развитием биологической науки, после долгих трудов и исканий, было, наконец, установлено, что процессы брожения и гниения неизменно вызываются деятельностью таких микроорганизмов, как дрожжи или бактерии, попадающих извне в гниющий или ферментирующий материал. Пастер доказал, что в стерильном материале не происходит ни брожения, ни гниения. Эти факты позволили в свое время Листеру положить начало современной хирургической асептике.

Еще задолго до этого в результате тщательного изучения пищеварительных соков было обнаружено, что их действие весьма сходно с ферментацией, вызванной микроорганизмами. Стали различать два типа ферментов. Одни получали название «организованных» ферментов; к ним относили дрожжи и бактерии, которые

и на самом деле являются живыми организмами. Характерным признаком других считали их способность действовать в пробирке, вне организма, без участия живого вещества, как это наблюдается у пищеварительных ферментов; их называли «неорганизованными» ферментами. Но постепенно укрепилось мнение, что и живые микроорганизмы (т. е. то, что раньше понималось под «организованными» ферментами) действуют посредством тех же «неорганизованных» ферментов, которые в них содержатся. В конце концов, понятие энзим (греч. en zyme—«в дрожжах»), или фермент, стало объединять все органические катализаторы—как те, которые действуют в пищеварительных соках вне организма, так и те, которые прочно связаны с живым веществом клетки.

Самое убедительное доказательство того, что химические превращения, осуществляемые живой клеткой, действительно обусловливаются содержащимися в ней энзимами, было дано в 1897 г. Бухнером. Бухнер получил из дрожжей нижнего брожения, отжимая их прессом, сок, который сбраживал сахар, давая алкоголь и угольный ангидрид, хотя, как это Бухнер убедительно доказал, сок был совершенно свободен от неповрежденных живых клеток. Ферменту, полученному таким образом, Бухнер дал название зимаза, опять-таки от греческого названия дрожжей. Зимаза дрожжей вызывает сбраживание сахара и этим доставляет дрожжевым клеткам энергию для их жизненных процессов.

После этого знаменательного открытия, когда было установлено, что одно из самых типичных брожений является результатом действия ферментов, которые могут быть извлечены из клеток и проявляют свое действие вне их, правильность этих фактов подтвердилась и в отношении многих микроорганизмов, а также тканей и жидкостей тела. Ферменты имеют универсальное распространение и тесно связаны с течением тех химических реакций, от которых зависит существование организма.

В некоторых случаях возможно бывает осадить активные ферменты из растворов посредством спирта и получить сухие препараты их. Такие препараты обычно дают цветные реакции на белок, но так как сам препарат, несомненно, не является химически чистым энзимом, то трудно решить—следует ли причиной этой реакции считать белковую природу ферментов или ее надо приписывать загрязнениям белками тех тканей, откуда препараты получены. Лишь в некоторых случаях получены кристаллические препараты ферментов; например, удалось приготовить кристаллы уреазы, пепсина и трипсина, обладающие всеми свойствами белков.

Так как химическое строение ферментов неизвестно, то, очевидно, невозможна и их систематическая номенклатура. В этих условиях целесообразнее называть каждый энзим, а в ряде случаев—группу энзимов по тому веществу, которое составляет объект их действия. Для образования названия фермента к названию субстрата прибавляют окончание «аза». Так, фермент, гидролизующий крахмал, называется амилазой (лат. amylum—крахмал);

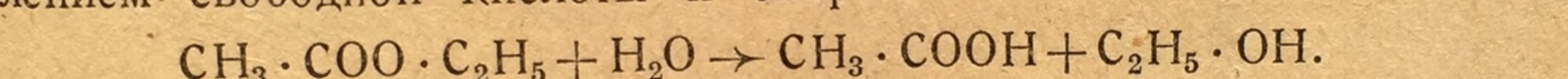
фермент, расщепляющий жиры, называют липазой (греч. lipos—жир). Часто в названии отмечают происхождение фермента, говорят, например, о панкреатической липазе и т. д. Впрочем, некоторые ферменты сохранили те названия, которые были им даны еще до введения указанной номенклатуры. Так, например, такие названия, как пепсин и трипсин, настолько вошли в обиход, что нет особенного основания их упразднять.

Мы должны, впрочем, подчеркнуть, что отсутствие точного знания химической структуры ферментов не помешало накоплению обширных сведений относительно действия ферментов и относительно факторов, влияющих на них. К этой теме мы теперь и обратимся.

Первым замечательным свойством ферментов является их огромная активность. Читатель уже мог заметить, что ферменты в условиях невысокой температуры и слабощелочной или слабо кислой реакции, которые имеют место в организме, осуществляют такие процессы, для которых в лаборатории необходима высокая температура, сильные кислоты и щелочи. При надлежащих условиях и за достаточный период времени препарат фермента способен осуществить соответствующие химические изменения практически бесконечно большого количества субстрата. Например, известно, что препарат амилазы из панкреатического сока способен переварить количество крахмала, почти в миллион раз превышающее его собственный вес. Этот факт убедительно доказывает, что ферменты, осуществляя ту или иную реакцию, сами при этом не расходуются, т. е. что они являются, по химической терминологии, типичными катализаторами. И с этим, действительно, согласуется все, что мы знаем о ферментах. Мы можем, таким образом, определить ферменты как катализаторы, вырабатываемые живой материей и обусловливающие все те химические процессы, без которых невозможна сама жизнь.

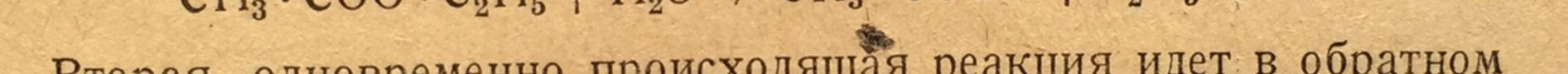
Правильность этой точки зрения подтверждается далее тем, что ряд суждений, приложимых к катализаторам, применим в общем и к ферментам. Очевидно, что катализаторы, оставаясь неизменными в системе, в которой они вызывают определенные химические превращения, не могут сообщать этой системе новых количеств энергии. Освобождение энергии могло бы иметь место только в том случае, если бы катализатор сам подвергался какому-либо химическому превращению, например, окислению. В действительности же этого не наблюдается. Отсюда следует, что процесс, происходящий при каталитическом действии фермента, отличается от реакции, протекающей между теми же веществами в отсутствии фермента, только своей скоростью. В предоставленной самой себе смеси веществ должно установиться то же самое состояние равновесия, что́ и в присутствии фермента, но только в отсутствии фермента процесс протекает со значительно меньшей, иногда с бесконечно малой скоростью. Смещение равновесия возможно лишь при изменении общего количества энергии системы, например, в случае поступления в нее некоторой добавочной энергии извне.

Источником образования такой энергии катализаторы служить не могут, так как содержащийся в них самих запас энергии остается неизменным в продолжение всего процесса. Этот факт доказан опытным путем на примере гидролиза эфиро ; этот процесс очень удобен для экспериментального изучения, так как происходит и в отсутст ии фермента с такой быстротой, при которой можно вести точное наблюдение. Если взять, например, уксусноэтиловый эфир и оставить его на несколько недель или месяцев в соприкосновении с водой, то он подвергается медленному гидролизу с образованием уксусной кислоты и этилового спирта:



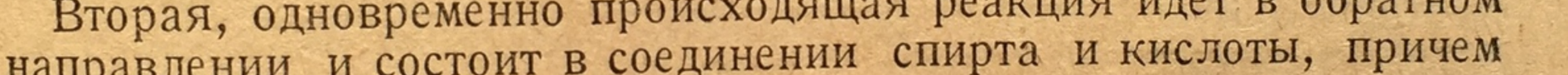
$$CH_3 \cdot COO \cdot C_2H_5 + H_2O \rightleftarrows CH_3COOH + C_2H_5OH.$$

Реакция продолжает итти медленным темпом, пока не образуется смесь, содержащая в определенном соотношении уксусноэтиловый эфир, воду, кислоту и спирт. После этого реакция как будто останавливается, и система неопределенно долго находится в этом состоянии равновесия без всяких дальнейших превращений. Причина этого явления заключается в том, что в каждый данный момент в системе в действительности имеют место две противоположные реакции. Одна из них состоит в гидролизе эфира с выделением свободной кислоты и спирта:



$$CH_3 \cdot COO \cdot C_2H_5 + H_2O \rightarrow CH_3 \cdot COOH + C_2H_5 \cdot OH.$$

Вторая, одновременно происходящая реакция идет в обратном направлении и состоит в соединении спирта и кислоты, причем опять образуются эфир и вода:



$$CH_3 \cdot COOH + C_2H_5 \cdot OH \rightarrow CH_3 \cdot COO \cdot C_2H_5 + H_2O.$$

Скорость каждой из этих реакций определяется концентрацией реагирующих веществ. Вначале концентрация эфира и воды относительно велика, и гидролиз протекает с значительной скоростью. По мере расщепления происходит израсходование эфира и воды, так что концентрация их понижается и скорость процесса мало-помалу уменьшается. Но тем временем возрастает незначительная сначала скорость обратного синтеза эфира из спирта и кислоты, так как концентрация их по мере расщепления эфира все повышается. Замедление прямой реакции и ускорение обратной продолжаются до тех пор, пока не наступит такое состояние, при котором скорость обеих реакций будет одинакова. В этот момент достигается равновесие системы; дальнейшее изменение состава смеси прекращается, так как эфир образуется вновь с такой же скоростью, с какой идет его расщепление. Если взять исходную смесь такого же состава, но прибавить к ней некоторое количество катализатора, например, разбавленной кислоты, то получится тот же самый конечный результат. Равновесие наступает при том же составе смеси, но только достигается гораздо быстрее, в течение нескольких часов. Отсюда следует, что катализатор не только не повышает содержания энергии в системе, но и ускоряет как прямую, так и обратную реакцию в совершенно одинаковой степени, так как положение

точки конечного равновесия определяется отношением скоростей прямой и обратной реакции, а это отношение может остаться неизменным только в том случае, если обе скорости увеличаться в одинаковое число раз. Подойдя к вопросу с несколько иной точки зрения, мы можем сказать, что в конечном итоге мы получим одну и ту же смесь четырех веществ независимо от того, будет ли исходная смесь состоять из спирта и кислоты или из воды и эфира и притом как в присутствии катализатора, так и без него; только в последнем случае равновесие достигается через более продолжительный срок. При этом безразлично, будет ли служить катализатором простое неорганическое вещество (например, какая-либо кислота) или биологический катализатор (фермент). Правильность этого

Рис. 11. Обратимость действия липазы из семян клещевины. Действие на смесь глицерина и олеиновой кислоты («синтез») и на триолеин («гидролиз»).

положения особенно убедительно доказана по отношению к липазе; в настоящее время считается, что оно приложимо в равной мере ко всем ферментам.

На рис. 11 можно видеть результаты действия фермента липазы (в этом случае полученной из семян клещевины) на смесь олеиновой кислоты и глицерина (верхняя кривая) и на эфир глицерина и олеиновой кислоты (нижняя кривая). Замечательно, что по истечении 15 часов обе кривые сходятся и идут затем совершенно горизонтально; это указывает, что с какой бы стороны мы ни подходили, во всех случаях получается одна и та же равновесная система из глицерина, олеиновой кислоты, эфира и воды. Направление, в котором протекает реакция, зависит исключительно от относительной концентрации реагирующих веществ. Если одни из этих веществ имеются в большем количестве, то реакция течет в том направлении, которое приводит к уменьшению их концентрации. С другой стороны, малая концентрация какого-либо из участников реакции благоприятствует течению реакции в сторону образования этого продукта. Катализаторы не влияют на направление реакции, они только ускоряют ее течение. В этом смысле катализаторы действуют как смазочное масло машины: оно облегчает

и ускоряет ход машины, но не приводит ее в действие, не регулирует направления движения. Сказать, что ферменты в одинаковой мере ускоряют и прямую, и обратную реакцию химической системы, это значит, другими словами, утверждать, что они способны катализировать как процессы распада веществ, так и обратные им процессы синтеза. Это уже видно из описанного примера действия липазы. Впервые синтетическое действие ферментов было установлено по отношению к мальтазе, которая способна осуществлять конденсацию моносахаридных молекул, если не в самую мальтозу, то по крайней мере в изомерный ей дисахарид. Недавно было показано, что пепсин способен образовать из продуктов белкового переваривания белковоподобные вещества более сложного строения. Несомненно, что в организме находят применение обе стороны действия ферментов: гидролитическое действие—в пищеварительном канале, где сложные составные части пищи подвергаются распаду на более элементарные по структуре, хорошо всасывающиеся и ассимилирующиеся вещества; синтетическое же действие протекает в тканях, где из этих элементарных веществ воссоздаются сложнейшие субстанции, из которых состоит живая материя. Таковы краткие замечания относительно обратимости действия ферментов.

Теперь мы переходим к весьма характерному свойству ферментов, именно к их замечательной специфичности. Читатель, несомненно, обратил внимание на то, что большинство ферментативных реакций относится к процессам гидролиза, т. е. они заключаются в распаде сложного соединения на более простые молекулы в результате присоединения элементов воды. Таково, например, расщепление жира липазой на жирные кислоты и глицерин, расщепление крахмала на моносахариды амилазой и расщепление белков на аминокислоты протеазой. Но как ни сходны эти процессы с чисто химической точки зрения, ферменты, вызывающие их, не могут заменять друг друга. Липаза гидролизует только жиры, амилаза—только крахмал, протеаза—только белки. Впрочем, во всех приведенных примерах мы имеем дело с ферментами, из которых каждый способен действовать на любых представителей соответствующей группы химически родственных субстратов. Но существует гораздо более высокая степень специфичности: некоторые ферменты действуют неодинаково даже на два оптических изомера одного и того же вещества, быстро расщепляя один и оставляя нетронутым или почти нетронутым другой. На этом основан способ получения из рацемической смеси в чистом виде того оптического изомера, который не поддается действию соответствующего фермента. Интересный и хорошо известный случай такой специфичности представляют ферменты, расщепляющие эфиры двух форм глюкозы, α- и β-глюкозиды, которые отличаются только пространственным расположением атомов конечной группы цепи. Мальтаза, полученная из солода, легко гидролизует α-соединения (включая и мальтозу, в которой глюкоза имеет α-конфигурацию), но не β-соединения, в то время как

эмульсин (фермент из сладких миндалей) гидролизует β-глюкозиды, но не α-глюкозиды. Это свойство используется для определения того, является ли данное соединение дериватом α-глюкозы или β-глюкозы. Подобным же образом амилаза гидролизует крахмал, состоящий из α-глюкозы, но не целлюлозу, которая состоит из β-глюкозы. Поэтому крахмал нашей пищи переваривается, а целлюлоза остается в непереваренном состоянии, ибо мы не обладаем ферментом, который гидролизовал бы β-глюкозиды. Существование ферментов со столь изощренной специфичностью убеждает нас в том, что структура фермента должна соответствовать структуре субстрата так же, как ключ подходит к замку, который он открывает.

Кроме обратимости и специфичности, ферменты обладают еще одним свойством, для них крайне характерным,—чувствительностью к температуре, термолабильностью. Как правило, по мере повышения температуры, скорость ферментативной реакции некоторое время возрастает; это является результатом обычного влияния повышения температуры на скорость химических реакций. Но свыше некоторого оптимума температуры (когда действие фермента достигает своего максимума) дальнейшее повышение ведет уже к падению активности энзима, а при температуре кипения (иногда даже еще и раньше) действие его совершенно прекращается. Другими словами, все ферменты разрушаются при кипячении, и этим обстоятельством постоянно пользуются, чтобы отличать ферменты от неорганических или других термостабильных катализаторов. Учитывая это разрушение фермента при высокой температуре, легко понять природу температурного оптимума активности. По мере повышения температуры действие фермента становится все более и более энергичным, но свыше некоторой температуры начинается разрушение фермента от нагревания. Наконец, при достаточно высокой температуре разрушается так много фермента, что уменьшение концентрации активного фермента перекрывает возросшую активность остатка, так что скорость реакции все более и более понижается.

Ферменты весьма чувствительны к изменению характера той среды, в которой протекает их действие. Особенно в этом отношении важна степень кислотности или щелочности. Так, например, пепсин действует на белки только в растворе, сильно подкисленном минеральной кислотой (в этом заключается роль соляной кислоты в желудочном соке). В связи с вопросом об идентификации ферментов заслуживает упоминания, что действие пепсина не только подавляется щелочами, но он и разрушается ими, так что раствор пепсина становится совершенно неактивным, если его подщелочить по фенолфталеину, выдержать 10 минут при температуре тела, а затем нейтрализовать. Этим пепсин отличается от химозина—фермента, свертывающего молоко,—который гораздо менее чувствителен к щелочам.

С другой стороны, трипсин нуждается для своей деятельности в слабощелочной реакции, которая может быть создана прибавле-

нием раствора углекислого натрия; кислотой активность трипсина только подавляется, но сам фермент не разрушается. Активность птиалина слюны выше всего при нейтральной реакции и подавляется как кислотами, так и щелочами. В общем, для каждого фермента существует очень хорошо выраженная степень кислотности или щелочности, при которой его активность достигает максимума, т. е. имеется определенный оптимум концентрации водородных ионов. К вероятному объяснению этого важного явления мы вернемся позже, когда будем иметь дело с вопросом о кислотно-щелочном равновесии и его влиянии на биологические вещества и процессы (гл. XIX). Активность ферментов зависит не только от концентрации кислот и щелочей, с которыми они приходят в соприкосновение, но также и от концентрации других электролитов. Это хорошо иллюстрируется примером птиалина, который не способен гидролизовать крахмал в отсутствии ионов хлора. Необходимо далее указать, что многие энзимы вырабатываются в клетке в неактивном состоянии и должны прийти в соприкосновение с особыми активаторами для того, чтобы стать способными проявлять свое специфическое действие. В III главе мы уже видели такого рода пример, когда шла речь о том, как панкреатический трипсин, не действующий на нативные белки, активируется после взаимодействия с энтерокиназой кишечного сока. Точно так же и тромбин, фермент, вызывающий превращение фибриногена плазмы в нерастворимые хлопья фибрина и обусловливающий свертывание крови, находится в крови в виде неактивного протромбина, который превращается в активную форму лишь при выходе крови из кровеносных сосудов. Это активирование требует обязательного наличия ионов кальция. На этом основываются общераспространенные способы предупреждения свертывания крови, что часто бывает необходимо для экспериментальных целей: к крови прибавляют щавелевокислые или фтористые соли, которые образуют с кальцием нерастворимый осадок, или лимоннокислые соли, которые подавляют ионизацию кальция. Следует упомянуть, что в противоположность этому роль солей кальция при свертывании молока химозином заключается не в активировании энзима, но в образовании самого сгустка молока, так как кальций дает нерастворимую соль с параказеином—продуктом, образующимся из казеина под действием химозина.

В противоположность этим облегчающим и ускоряющим действие ферментов агентам мы знаем также многие вещества, которые понижают или полностью подавляют активность ферментов—это так называемые «ферментные яды». Наиболее распространенные из таких ядов это соединения тяжелых металлов (серебра, ртути), соли синильной кислоты, фтористой кислоты, алкалоиды. Совершенно ясно, что отдельные представители этой смешанной группы веществ действуют на ферменты весьма разнообразно.

Вещества, подавляющие активность ферментов, обнаружены и в организме. Сюда относится антипепсин, который выде-

ляется стенками желудка и защищает их от переваривания пепсином. Подобным же образом обстоит дело со свертыванием крови. Как указывалось выше, последнее обусловлено одновременным присутствием в крови фибриногена и протромбина с ионами кальция, дающих в совокупности активный тромбин и вызывающих свертывание крови. В сосудах свертывания крови не происходит, так как в крови имеется вещество—так называемый антитромбин,—которое препятствует взаимодействию ионов кальция и протромбина, вследствие чего и не происходит образования активного тромбина. Этот антитромбин получают теперь из печени и под названием гепарина он находит широкое применение для предохранения крови от свертывания при экспериментах на животных. Причина свертывания крови при кровотечении заключается в том, что из поврежденных тканей и кровяных пластинок выделяется тромбокиназа, которая соединяется с антитромбином и обеспечивает этим возможность активирования тромбина ионами кальция. Тромбокиназа, которой ошибочно приписывали функцию непосредственного активирования протромбина, еще недавно была загадочным веществом с неизвестной структурой; в настоящее время имеются указания, что она идентична с фосфатидом кефалином. В связи с этим интересно отметить, что вещество, выделяемое пиявкой для предотвращения свертывания высасываемой ею крови, тормозит непосредственное соединение тромбина с фибриногеном, но не влияет на образование тромбина. Это вещество может быть экстрагировано из пиявок, и под названием гирудина находит себе широкое применение в лабораторной практике как антикоагулятор.

Наконец, мы должны кратко упомянуть о методах обнаружения и количественного определения энзимов. Не зная химического состава ферментов, мы не в состоянии поступать с ними в этом отношении так, как мы это делаем с обычными химическими веществами; для целей качественного и количественного определения ферментов единственным критерием служит их специфическая активность. Так, например, желая качественно определить амилолитический фермент, мы добавляем в пробирку с исследуемой жидкостью крахмального клейстера, создаем нейтральную реакцию и помещаем пробирку в водяную баню при температуре тела. Если обнаружится, что смесь постепенно теряет способность давать синюю окраску с иодом, то мы заключаем отсюда о присутствии амилазы во взятом для исследования растворе. Мы можем подтвердить наше заключение, убедившись, что кипячение раствора приводит к уничтожению его амилолитической способности. Это доказывает, что гидролиз вызван ферментом, так как мы знаем, что ферменты разрушаются при кипячении. Ясно, что правильное проведение этой качественной пробы требует, чтобы крахмала было взято немного, иначе может оказаться, что для исчезновения окраски с иодом необходимо слишком много времени. Точно так же и при других качественных пробах на ферменты, как правило, лучше употреблять малые количества суб-

страта. При обнаружении протеолитических ферментов мы устанавливаем, способна ли исследуемая жидкость вызвать гидролиз прибавленного к ней белка. В случае пепсина употребляют обычно фибрин (из кровяного сгустка), окрашенный кармином. Смесь предварительно должна быть подкислена 0,4% соляной кислотой. Если фибрин гидролизуется, то кармин освобождается и окрашивает всю жидкость. В качестве контроля берут предварительно прокипяченную исследуемую жидкость, чтобы быть уверенным в том, что освобождение кармина вызвано именно действием фермента. Соляная кислота сама по себе не экстрагирует кармина, но щелочи его извлекают, и поэтому кармин нельзя использовать для определения трипсина, ибо здесь необходимо подщелачивать среду углекислым натрием. Для исследования на трипсин можно брать фибрин, окрашенный конго. И пепсин, и трипсин могут быть обнаружены также по перевариванию казеина. Для определения пепсина употребляют разведенный раствор казеина в соляной кислоте, а для трипсина—тот же раствор в углекислом натрии. Отбирая небольшие пробы раствора через определенные промежутки времени, мы судим о наличии переваривания по исчезновению казеина. Для этого в солянокислый раствор казеина осторожно прибавляют уксуснокислый натрий, а в щелочной—разведенную уксусную кислоту; в обоих случаях получается слабокислая реакция, при которой казеин не растворим. Если осадка не выпадает, то это значит, что казеина в растворе больше нет (он весь переварен ферментом). Конечно, это должно быть подтверждено параллельным контролем с кипяченым исследуемым раствором. Липазу определяют по ее способности освобождать жирные кислоты (обнаруживаемые по изменению окраски индикатора) из эмульсии жира, имеющей нейтральную реакцию. Наличие уреазы устанавливают по аммиаку, который освобождается при расщеплении мочевины.

При определении степени активности фермента или устанавливают количество субстрата, расщепляемого при избранных условиях в данный отрезок времени, или определяют время, требуемое для полного расщепления данного количества субстрата, или, наконец, устанавливают, какое количество испытуемого ферментного раствора даст определенный эффект за данный отрезок времени.

Для иллюстрации первого принципа мы укажем на старый метод определения пепсина. Яичный белок насасывают в капиллярные трубки и коагулируют кипячением. Трубки разрезают затем на кусочки определенной длины и погружают на несколько часов в раствор пепсина при температуре тела. Путем эксперимента было установлено, что в этих условиях длина переваренного столбика белка пропорциональна квадратному корню от концентрации пепсина. Примером второго принципа является обычный способ измерения активности амилазы, когда определяют количество испытуемого материала (например, слюны), переваривающее определенное количество крахмала за некоторый установлен-

ный промежуток времени. Такого рода определения используются и в клинической практике. Так, известно, что в норме в моче содержатся очень небольшие количества амилазы, происходящей из поджелудочной железы. При инфекционных заболеваниях поджелудочной железы (панкреатитах) количество амилазы в моче чрезвычайно увеличивается, и это используется в целях диагностики заболевания. Приготовляют ряд возрастающих разведений мочи, прибавляют всюду определенное количество 1% крахмала, оставляют при температуре тела на полчаса и потом пробой с иодом определяют, в какой пробирке наступило полное переваривание. Затем высчитывают, какое количество кубических сантиметров 1% раствора крахмала может быть гидролизовано за полчаса кубическим сантиметром мочи при температуре тела. Обычно этот диастатический показатель, как его называют, достигает 10, что, конечно, значительно меньше величины показателя слюны; но при заболеваниях поджелудочной железы этот показатель возрастает, достигая нескольких сотен и даже тысяч.

У читателя, естественно, должен возникнуть вопрос: какова же истинная природа ферментов, каков механизм их действия, характеризующегося такой замечательной интенсивностью, такой полной обратимостью, исключительной специфичностью и столь выраженной чувствительностью к изменениям температуры и состава окружающей среды? В предыдущем изложении, приведя ряд сведений о свойствах ферментов и об их действии, мы не сообщили никаких данных об их природе. Ответ на эти вопросы могут дать лишь такие опыты, при которых учитывается не только конечный результат действия фермента, т. е. образовавшиеся продукты как таковые, но также исследуется скорость образования этих продуктов — другими словами, если ведутся не статические, а кинетические исследования. Мы можем пояснить это следующим примером. В присутствии небольшого количества кислоты в качестве катализатора тростниковый сахар быстро гидролизуется на смесь глюкозы и фруктозы, и, исследуя через определенные промежутки времени нашу смесь при помощи поляриметра, мы можем легко убедиться, что скорость гидролиза тростникового сахара неуклонно падает с момента начала реакции. Это значит, что скорость реакции в каждый данный момент пропорциональна количеству тростникового сахара, оставшемуся неизмененным в растворе. Чем меньше остается неизмененного сахара, тем все больше и больше падает скорость дальнейшего гидролиза. Если мы берем более высокие концентрации кислоты, то реакция ускоряется, но характер кривой от этого не изменяется. Если же вместо неорганической кислоты мы возьмем теперь для ускорения реакции фермент инвертазу, которая может быть получена из дрожжей и других источников, то мы получаем существенно иные результаты.

Если количество сахара по сравнению с взятым количеством фермента велико, то оказывается, что скорость гидролиза не па-

дает с первого же момента начала реакции, но остается постоянной на протяжении довольно длительного периода. Ход реакции гидролиза тростникового сахара ферментом в этом случае выражается прямой линией, между тем как для кислотного гидролиза характерна более пологая кривая (рис. 12). Очевидно, что в опыте с ферментом скорость гидролиза уже не зависит непосредственно от числа молекул тростникового сахара, имеющихся налицо в каждый данный момент, ибо и тут количество их непрерывно уменьшается, между тем как реакция идет с постоянной скоростью, по крайней мере в начальном периоде. Общепринятое объяснение этого и подобных ему наблюдений таково, что первая ступень действия фермента заключается в быстром образовании комплексного соединения фермента с субстратом, которое только и подвергается дальнейшему распаду. Если имеется такое соотношение концентраций субстрата и фермента, при котором при расщеплении молекулы комплексного соединения на ее место сразу образуется новая, то количество таких комплексов фермент-субстрат долгое время остается постоянным, вследствие чего постоянной остается и скорость реакции. Эти условия сохраняются до тех пор, пока субстрат не израсходуется настолько, что его количества будет уже недостаточно для полного «насыщения» фермента. Тогда концентрация комплекса фермент-субстрат постепенно падает и скорость реакции соответственно уменьшается; согласно этому объяснению, следует ожидать, что при достаточно малой концентрации субстрата по отношению к ферменту, когда субстрата недостаточно для насыщения фермента и образования комплексов даже в начале реакции, гидролиз не покажет характерного постоянства скорости в начальном периоде, но обнаружит постепенное замедление с первого же момента. Это и было действительно установлено. Но не следует думать, что эта простая теория без труда объясняет решительно все случаи действия ферментов. Для действительно полного объяснения течения энзиматических

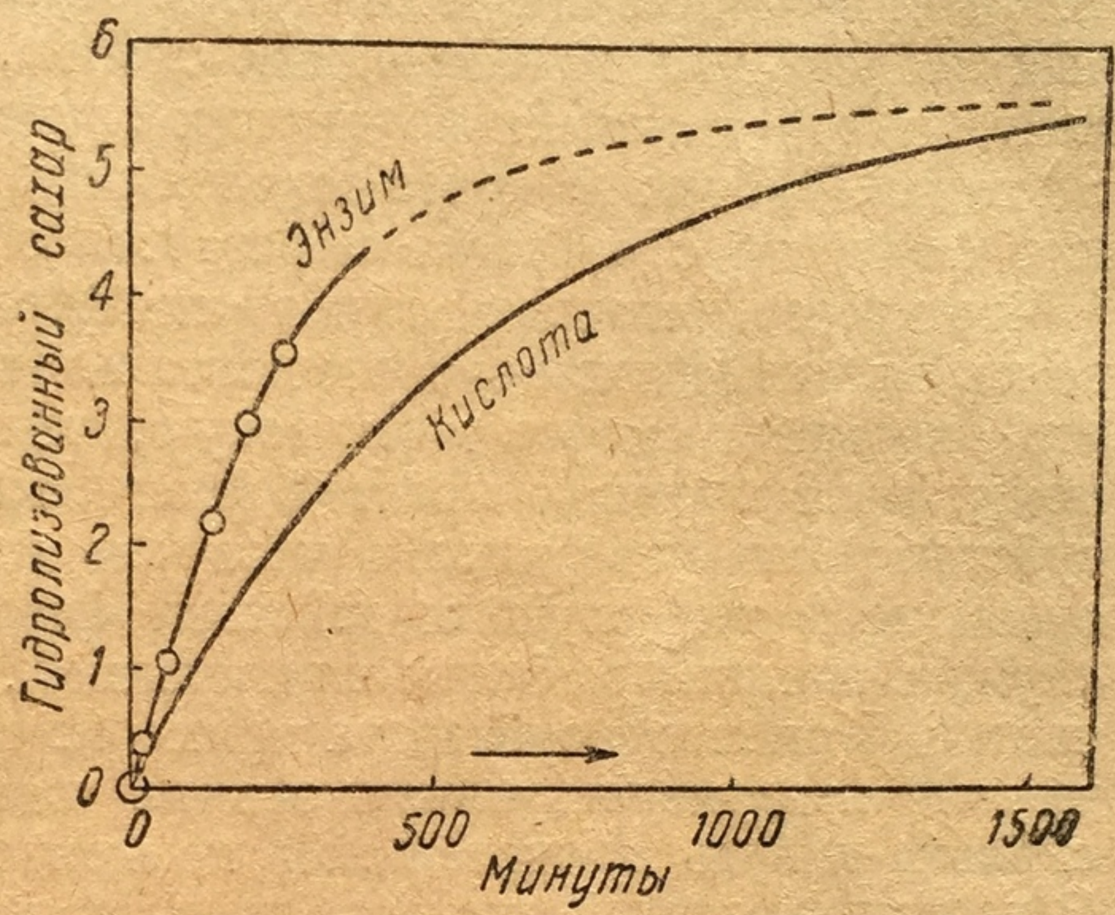


Рис. 12. Скорость энзиматического и кислотного гидролиза тростникового сахара при одинаковой начальной концентрации его (5, 7 единиц по поляриметру). В обоих случаях реакция достигает того же положения равновесия, но в то время, как скорость кислотного гидролиза начинает падать с первого же момента, скорость энзиматического процесса остается постоянной примерно 4 часа, а затем внезапно сильно замедляется.

реакций необходимо принимать в расчет многие факторы. Реакция может замедлиться вследствие постепенного накопления продуктов гидролиза и соответствующего ускорения обратной синтетической реакции, которая, как мы знаем, тоже катализируется ферментами. Далее, продукты гидролиза субстрата могут оказывать весьма значительное влияние на фермент, в некоторых случаях вызывая явления, аналогичные тем отравлениям фермента, о которых мы уже упоминали; одним словом, подробное изучение ферментативной кинетики во многих случаях является делом весьма сложным. Но тем не менее основная идея об образовании соединения фермента с субстратом остается общепринятой.

Что касается природы соединения фермент-субстрат, то, основываясь на имеющихся экспериментальных данных, нужно сказать, что оно имеет скорее химическую, чем физическую, основу. Не может быть и речи о простой физической концентрации молекул субстрата на поверхности частичек фермента. Это совершенно очевидно в тех случаях действия ферментов, когда субстратом служит, например белок или крахмал. В этом случае величины частиц фермента и субстрата примерно одного и того же порядка, так что поверхность частиц энзима совершенно недостаточна для сколько-нибудь значительной концентрации на ней субстрата. В настоящее время некоторое представление о природе соединения фермент-субстрат дает изучение вопроса о том, какие группы должны иметься в молекуле субстрата, чтобы сделать его доступным действию энзима; ведь не подлежит сомнению, что активная группа фермента должна быть способна к соединению с какой-то специфической группой субстрата. Некоторые протеолитические энзимы теряют свою активность по отношению к полипептидам, если конечную карбоксильную группу полипептида эстерифицировать; очевидно, в этом случае группа COOH участвует в образовании связи с ферментом. В других случаях то же самое было установлено по отношению к группе NH_2. Ввиду того что в каждом случае и длина, и аминокислотный состав полипептидной цепи также влияют на доступность субстрата действию фермента, следует заключить, что фермент должен соединяться с полипептидной цепью в двух точках. В настоящее время точно установлено, что фермент, способный расщеплять трипептиды определенного состава, не действует на соответственный дипептид, содержащий на одну аминокислоту меньше. Очевидно, это является следствием высокой специфичности фермента, ибо и во втором случае имеется подвергающаяся разрыву пептидная связь.

Поскольку молекула субстрата соединяется с ферментом, она, повидимому, подвергается действию мощного электростатического силового поля, обусловленного сильно полярными группами ферментной молекулы. Эти силы вызывают нарушение равновесия отдельных групп молекулы субстрата, так что молекула или распадается, или «активируется» в том смысле, что после этого она легче реагирует с другими веществами, например, в случае гидролических реакций—с водой.

Относительно взаимоотношения между активными группами и всей структурой фермента в целом существуют две возможности. В одних случаях мы должны рассматривать фермент как определенный химический индивидуум, активные участки молекулы которого являются звеньями длинной полипептидной или ей подобной цепи. В других случаях приходится рассматривать фермент как комплекс, состоящий из небольшой активной группы, связанной с коллоидным носителем и неспособной к самостоятельному функционированию.

Катализаторы окисления

Ферментные системы, участвующие в окислительных процессах, представляют исключительный интерес, поскольку ускоряемые ими химические процессы являются непосредственными источниками энергии в тканях. Вещества, быстро окисляющиеся в тканях, как правило, не могут быть окислены путем простого соприкосновения с газообразным или растворенным кислородом. Глюкоза, например, не окисляется кислородом, даже если ее оставить в соприкосновении с ним на протяжении многих лет. Очевидно, что ткани должны обладать мощными каталитическими агентами для того, чтобы окисление ускорилось до той степени, которая соответствует энергетическим потребностям организма. Впервые эти окислительные агенты были изучены на растительных тканях. Изучение началось с простого наблюдения, что многие вещества, сами по себе весьма стабильные, начинают поглощать кислород из воздуха, если к их растворам добавить немного какого-либо растительного сока. Для демонстрации этого явления особенно удобно употреблять вещества, которые при окислении приобретают ту или иную окраску; среди них весьма часто применяется для такого рода экспериментов гваяковая смола. Если раствор гваяковой смолы взбалтывать на воздухе, то никаких изменений с ним не происходит. Но если к нему прибавить немного картофельного сока, то раствор тотчас же приобретает интенсивную синюю окраску. Очевидно, сок картофеля содержит активный окислительный катализатор; такие катализаторы получили название *оксидаз*. Что оксидаза не является простым энзимом, видно из того, что ее легко можно разделить на два компонента. Если сок картофеля смешать со спиртом, то получается осадок, который можно собрать и растворить в воде. Полученный препарат уже не обладает способностью переносить кислород воздуха на такие вещества, как гваяковая смола, но он окисляет ее в присутствии перекиси водорода; полученный препарат содержит фермент *пероксидазу*. Окислительное действие картофельного сока обусловливается тем, что, кроме пероксидазы, он содержит еще *аутоксидабельные* вещества фенольной природы, которые способны непосредственно соединяться с кислородом воздуха, образуя органические перекиси; из этих-то перекисей кислород под влиянием пероксидазы, содержащейся в том же

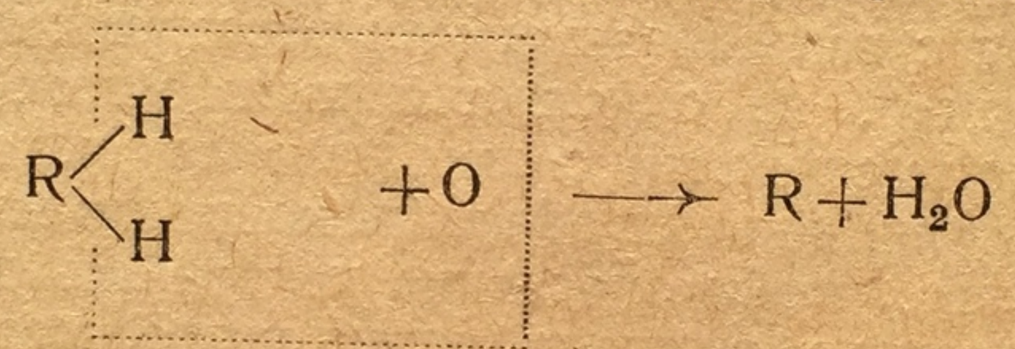
соке, и переносится на окисляемый субстрат. Аутоксидабельные вещества остаются в растворе при обрабатывании растительного сока спиртом; их превращение в органические перекиси вызывает коричневую окраску, появляющуюся на воздухе на поверхности разреза картофеля или яблока.

Если мы изобразим окисляемый субстрат формулой RH_2 и представим себе, что в процессе окисления отщепляется два водородных атома субстрата в виде воды, то весь ход превращений можно изобразить следующим образом:

Аутоксидабельное вещество $+O_2$ (воздух) $\rightarrow$ органическая перекись.

Органическая перекись $+ RH_2$ (+ пероксидаза) $\rightarrow$ аутоксидабельное вещество $+R + H_2O$.

Если учесть, что аутоксидабельное вещество регенерируется при этом в неизмененном состоянии, то окончательный результат этого процесса таков же, как и в том случае, если бы субстрат был окислен непосредственно следующим образом:

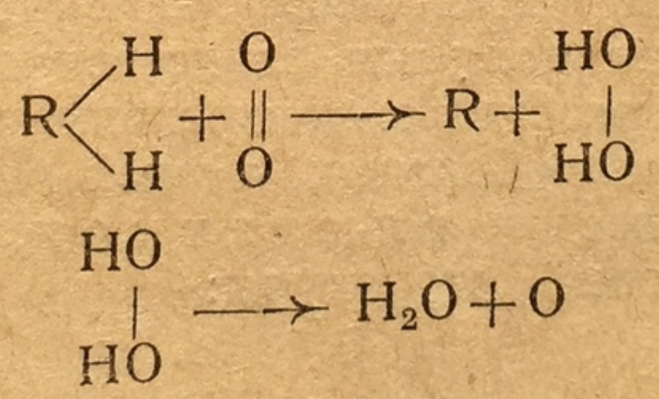


Самопроизвольно такого окисления не происходит, для него требуется активация кислорода пероксидазой. Этот механизм окисления, протекающего под действием сока из картофеля, может показаться весьма далеким от практики, но в действительности он хорошо демонстрирует принципы, которые положены в основу важной реакции на кровь, применяющейся, например, при исследовании мочи. Дело в том, что гемоглобин и его дериваты обладают свойствами пероксидазы; поэтому, если к исследуемой жидкости прибавить перекись водорода и в качестве окисляемого субстрата или гваяковую настойку, или бензидин, растворенный в ледяной уксусной кислоте, то в присутствии даже следов крови появляются темносиние продукты окисления.

У животных окислительный механизм отличается коренным образом от только что описанного механизма окисления у растений, поскольку ферменты, обнаруженные в животных тканях, вместо активирования кислорода переносят или активируют водород субстрата. Это можно иллюстриро ать на примере окислительного фермента, о наруженного в молоке. Его часто называют ферментом Шардингера. Из числа возможных субстратов окисления мы выберем формальдегид; в качестве акцептора водорода возьмем не кислород, а метиленовую синь, которая при восстановлении превращается в бесцветное соединение, благодаря чему ее участие в реакции можно легко проследить. Легко показать, что в водном растворе при температуре тела формальдегид не реагирует с метиленовой синью. Но, если оба вещества прибавить к молоку и смесь слегка подогреть, то окраска метилено-

вой сини скоро исчезает, показывая этим, что под влиянием фермента Шардингера метиленовая синь отняла водород от формальдегида, который, следовательно, был ею окислен. Эту реакцию можно употреблять для того, чтобы обнаружить в молоке формальдегид (который применяется в качестве консервирующего средства) или установить, является ли молоко сырым или кипяченым; в последнем случае фермент разрушается и реакция не происходит. Но значение этой реакции никоим образом не ограничивается ее практическим применением. Она представляет интерес как вероятный прототип процессов окисления в животном организме. Главная разница заключается только в том, что вместо метиленовой сини в тканях мы имеем в качестве окончательного акцептора водорода молекулярный кислород, приносимый кровью. Когда молекулярный кислород действует как водородный акцептор, то сначала получается перекись водорода, которая обнаружена в тканях, по крайней мере в виде следов, при действии окислительных ферментов. Но перекись водорода—яд для тканей; она не может накопляться в них в сколько-нибудь значительных количествах. Соответственно этому во всех тканях, где протекают энергичные процессы окисления, существует фермент к а т а л а з а, который быстро разлагает перекись водорода на воду и кислород. Наличие каталазы в тканевых экстрактах проявляется быстрым выделением кислорода, которое происходит при смешивании экстрактов с перекисью водорода. Универсальное распространение каталазы легко можно продемонстрировать на обширном материале, начиная с аэробных бактерий и кончая кровью млекопитающих. Каталаза отличается от растительной пероксидазы тем, что она действует только на перекись водорода, но не на перекиси вообще.

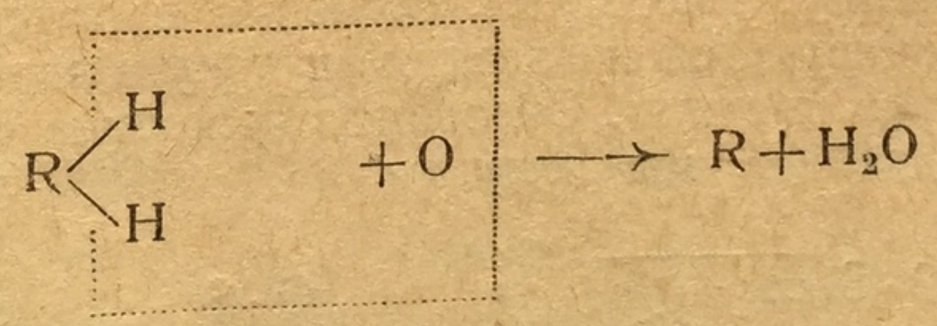
Изобразив последовательный ход этих процессов тем же способом, что и раньше, мы получим:



$$R\begin{matrix}H\\H\end{matrix} + \begin{matrix}O\\O\end{matrix} \longrightarrow R + \begin{matrix}HO\\HO\end{matrix}$$

$$\begin{matrix}HO\\HO\end{matrix} \longrightarrow H_2O + O$$

Отсюда видно, что в итоге процессов окисления в животных тканях получается тот же результат, что и в растениях:



$$R\begin{matrix}H\\H\end{matrix} + O \longrightarrow R + H_2O$$

В настоящее время установлено, что значительная, а может быть, даже и бóльшая часть водорода, активированного в окисляе-

мом материале дегидрогеназами типа шардингеровского фермента, не присоединяется непосредственно к молекулярному кислороду, но восстанавливает сначала цитохром, железосодержащий пигмент, имеющийся во всех клетках, где происходит окисление. Этот пигмент состоит из вещества, сходного по своей химической природе с гемохромогеном, с которым мы еще встретимся в качестве производного гемоглобина крови.

Цитохром может быть распознан по его спектру поглощения, который можно обнаружить и непосредственно в клетках путем специальной комбинации микроскопа и спектроскопа. Цитохром может существовать в окисленной и в восстановленной форме. Восстановленный цитохром может быть снова окислен атмосферным кислородом. Но для этого необходим специальный фермент, так называемая цитохромоксидаза, также существующая в клетках животных тканей.

Центральное положение, которое занимает цитохром в окислительном механизме клетки, может быть представлено так:

$$RH_2 + \text{окисленный цитохром} \xrightarrow{\text{дегидрогеназа}} \text{восстановленный цитохром} + R$$

$$\text{восстановленный цитохром} \xrightarrow[+O_2]{\text{цитохромоксидаза}} \text{окисленный цитохром}$$

Чрезвычайно интересно, что окисление в тканях подавляется агентами двух видов: наркотики (хлороформ и др.) действуют угнетающим образом на восстановление цитохрома, в то время как цианиды, окись углерода и сероводород подавляют его окисление. Цитохром вместе с цитохромоксидазой образует то, что прежде называли дыхательным ферментом.

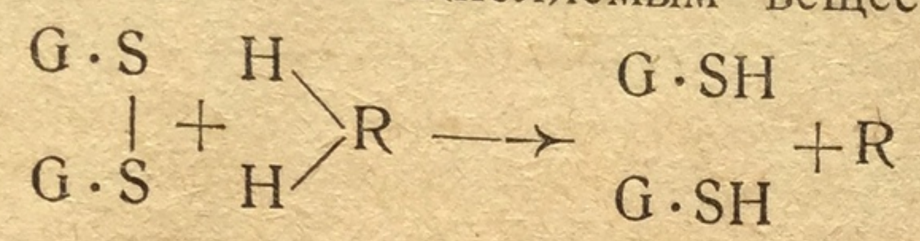
Однако это лишь часть всего окислительного механизма. Цитохром отнюдь не является единственной составной частью животной клетки, способной к попеременному окислению и восстановлению. Из разнообразных тканей было изолировано содержащее серу вещество глютатион, который оказался трипептидом следующей структуры:

Глютаминовая кислота — цистеин — гликокол.

Подобно цистеину, глютатион, особенно в присутствии следов железа, легко окисляется на воздухе в дисульфид, соответствующий по структуре цистину. Обозначив основную часть молекулы глютатиона буквой G, мы получим

$$\begin{matrix} G\cdot S & H \\ & +O \\ G\cdot S & H \end{matrix} \longrightarrow \begin{matrix} G\cdot S \\ | \\ G\cdot S \end{matrix} + H_2O$$

Эта дисульфидная форма способна функционировать как акцептор водорода по отношению к окисляемым веществам ткани:



Легко видеть, что в этой серии реакций мы имеем опять окисление RH_2 в R и H_2O. Несомненно, что глютатион может указанным путем катализировать окисление многих веществ, но степень его фактического участия в окислительных процессах тканей еще неясна. Один процесс, в котором глютатион, повидимому, непосредственно участвует, это превращение метил-глиоксала в молочную кислоту. Здесь он действует как «кофермент» энзима глиоксалазы. Это наводит на мысль, что даже если глютатион и не является непосредственным катализатором тканевого окисления, то все же его окисленная и восстановленная формы (соотношение которых определяется окислительно-восстановительным потенциалом) могут в широкой степени действовать как коферменты различных тканевых энзимов и осуществлять корреляцию тканевых реакций с окислительными процессами в клетке.

Другим ферментом, участвующим в клеточном окислении, является *желтый окислительный фермент*, изолированный несколько лет назад из дрожжей. Этот фермент представляет собой комплекс желтого гетероциклического азотсодержащего пигмента, называемого *флавином*, с фосфорной кислотой и белком. Повидимому, он способен играть роль акцептора водорода, отнимая его от окисляющегося субстрата, подобно тому, как мы это описали для метиленовой сини. Ему приписывают то остаточное окисление, которое еще имеет место в некоторых клетках при отравлении цитохромного механизма цианидом.

Таковы основные факты, которые известны в настоящее время об окислительных ферментах живой материи. Даже несмотря на то, что мы оставили в стороне целый ряд дальнейших деталей, читатель видит, насколько сложна проблема клеточного окисления. Исследования в этой области ведутся весьма интенсивно, но потребуется еще много времени, пока клубок загадок будет настолько распутан, чтобы мы могли точно установить путь окисления любого вещества, которое живая клетка способна сжигать, и могли бы вложить реальный химический смысл в утверждение, что ткани получают энергию путем окисления субстрата до углекислоты и воды.

ГЛАВА XIV

ДОБАВОЧНЫЕ ПИЩЕВЫЕ ФАКТОРЫ, ИЛИ ВИТАМИНЫ

Уже с давних пор, с того времени, как развитие мореплавания сделало возможным дальние продолжительные путешествия, стало известно, что пища, состоящая целиком из консервированных продуктов, не пригодна для поддержания в течение долгого

времени здоровья судового экипажа, хотя бы в ней содержалось достаточно горючего материала для покрытия потребностей организма в энергии и достаточно белков для возмещения азотистых потерь его тканей. Чаще всего при этих условиях наблюдается заболевание, известное под названием цынги, или скорбута. Наиболее характерным признаком этой болезни является появление множества маленьких кровоизлияний, преимущественно между зубами и в окружности костей и суставов. Эти явления сопровождаются почти полной потерей мышечной силы конечностей. Сперва эти симптомы приписывали избыточному содержанию соли в консервированной пище. В настоящее время установлено, что они обусловлены отсутствием в консервах некоторых веществ, небольшие количества которых необходимы для поддержания здоровья. Вещества эти имеются в свежих пищевых продуктах, но они настолько неустойчивы, что легко разрушаются в процессе консервирования. Правильность такого объяснения доказывается тем, что недостающее вещество может быть доставлено в нужном количестве, если присоединить к диэте немного свежих фруктов или овощей.

Около ста лет назад было известно, что необходимое вещество в достаточном количестве содержится в соке лимона, и в таком виде оно может быть заготовлено прозапас на продолжительное время. В то время антицынготные свойства приписывали кислоте лимонного сока и потому предполагали, что и сок вестиндского померанца, тоже очень кислый, окажется таким же действительным профилактическим средством от цынги; как известно, экспедиции в полярные страны и другие пустынные местности обычно снабжались большим запасом померанцевого сока. Но запасенный сок часто оказывался неактивным. В настоящее время мы знаем, что активным веществом является вовсе не лимонная кислота сока, но совершенно иное вещество, которое содержится в соке померанца в значительно меньшем количестве, чем в соке лимона. Теперь всегда употребляют концентрированный лимонный сок.

Из этого примера видно, что диэту нельзя считать полной, если она не содержит, кроме обычных количеств белков, жиров, углеводов и неорганических солей, малые, но совершенно определенные количества некоторых «добавочных веществ», содержащихся в сырой, т. е. не подвергшейся кулинарной обработке, пище. Эти вещества теперь широко известны под именем витаминов; их название основывалось на опровергнутом теперь предположении, что они являются аминами, необходимыми для обеспечения жизненных (витальных) процессов. Если в пище отсутствуют витамины, то этот недостаток обусловливает появление болезней, одной из которых является цынга. Этот антискорбутный витамин, действие которого мы в кратких чертах описали, называется витамином С, так как хотя он и был открыт одним из первых, но название по буквам алфавита было ему присвоено по счету третьему.

Если описывать отдельные витамины по порядку открытия, то мы должны вернуться к 1897 году, когда Эйкман, тюремный врач на Яве, изучил болезнь бери-бери, широко распространенную на Востоке среди туземцев, питающихся преимущественно рисом. Эта болезнь состоит в распространенном неврите, т. е. в перерождении всех периферических нервных стволов, что ведет к потере чувствительности, мышечным параличам и атрофии мышц. Если заболевший не лечится, то наступает смерть от нарушения сердечной деятельности. Бери-бери появляется, когда туземцы перестают питаться грубо ободранным рисом и заменяют его белым полированным рисом, у которого красноватая внешняя оболочка (отруби) и зародыш ободраны. Эйкману удалось заметить, что однажды у домашней птицы, содержавшейся на тюремном дворе, развились симптомы, похожие на бери-бери заключенных. Эйкман установил, что больные птицы питались полированным рисом, остававшимся от заключенных, а не смешанной пищей. Это определенно показывало, что болезнь вызвана особенностями питания, и сперва предполагали, что причиной бери-бери является избыток крахмала. Затем было установлено, что в действительности причина болезни заключается в отсутствии некоторых веществ, содержащихся в наружном слое рисового зерна и удаляемых при полировке. В 1911 году Функу удалось получить из риса путем алкогольной экстракции препарат, малая доза которого вылечивала в один день заболевшую птицу. Именно этому веществу и было впервые дано название «витамин». Теперь этот витамин известен под именем витамина В.

Приблизительно в это же время Гопкинс в опытах, проведенных между 1906 и 1912 годами, показал, что для обеспечения нормальных процессов роста необходимы небольшие количества каких-то веществ, отличающихся от хорошо известных белков, жиров, углеводов и неорганических солей. В своем ставшем классическим эксперименте он взял два помета молодых крыс и посадил их на разные диэты. Один помет питался смесью тщательно очищенного казеина, крахмала, тростникового сахара, свиного сала и неорганических солей; второй помет получал то же самое, но сверх того еще 3 см³ сырого молока в день на животное; этой добавки, по выражению Гопкинса, «хватило бы только на то, чтобы питать кончик хвоста». Все крысы ели с одинаковым аппетитом, но те, которые получали основную диэту без молока, теряли в весе, между тем как получавшие молоко развивались совершенно нормально. Это не было вызвано какими-либо неучтенными различиями между обоими пометами, так как через 18 дней после начала эксперимента диэта обоих пометов крыс была переменена, и при этом оказалось, что крысы, которые раньше не получали молока, стали сразу расти, как только им было дано молоко. Наоборот, крысы, которые раньше получали молоко, а теперь были его лишены, перестали прибывать в весе и даже начали несколько терять (рис. 13). Теперь для нас несомненно, что в этом поразительном эксперименте играл роль не один, но несколько диэтети-

ческих факторов. Позже было открыто, что в жире молока имеется вещество, ускоряющее рост; оно было обозначено (впервые по буквам алфавита) как витамин А. Было установлено также, что жиры животного происхождения предупреждают заболевание рахитом, при котором резко нарушается кальцификация костей и зубов. Сначала этот эффект приписали тоже витамину А, ускоряющему рост, но когда было найдено, что антирахитические свойства жиров не так легко исчезают при окислении, как ускоряющие рост, то стало ясно, что антирахитический витамин отличается от витамина А. Так как следующие две буквы были уже заняты для обозначения антиневритического витамина В и антискорбутного витамина С, то новый витамин был назван витамином D.

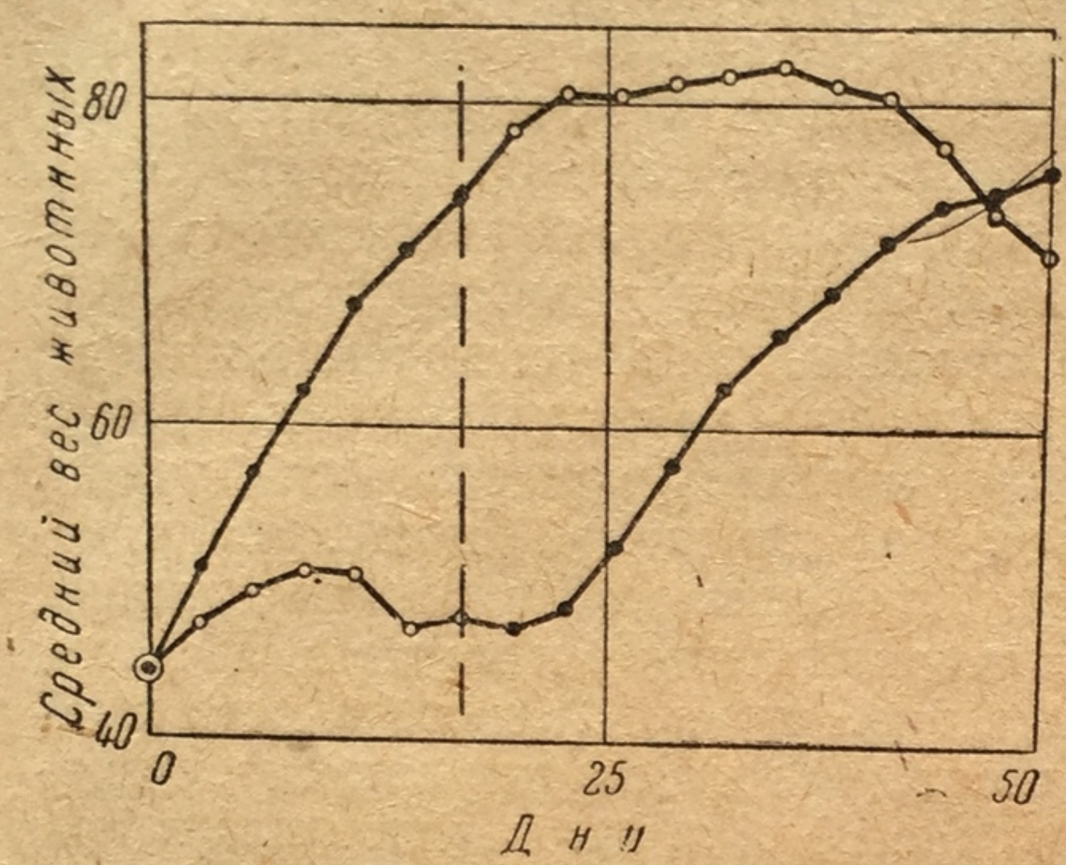


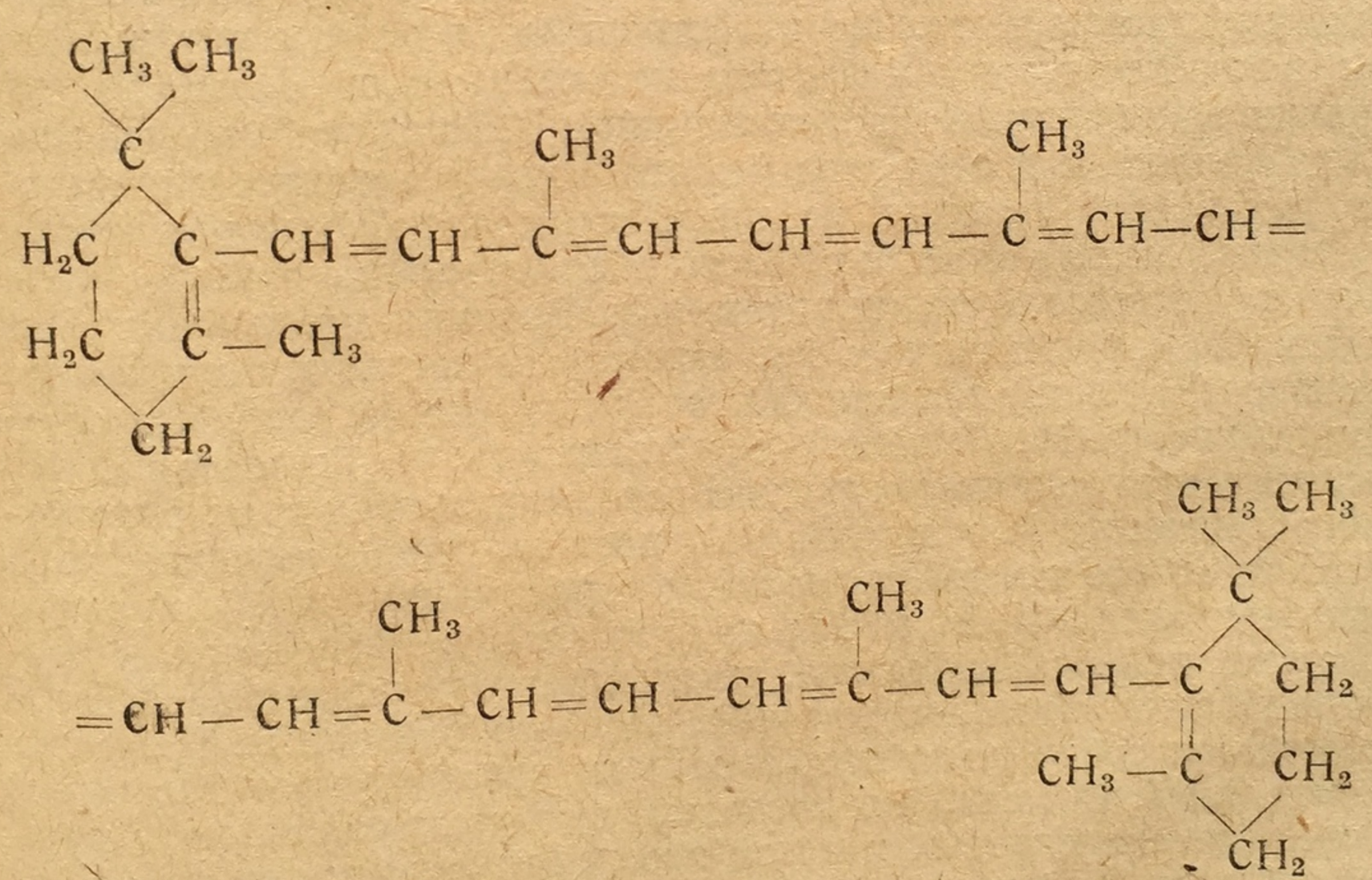
Рис. 13. Влияние витаминов свежего молока на рост крыс. Группа животных, средний вес которых обозначен линией с светлыми кружочками, получала только основную диэту, без добавок; помеченные линией с черными кружочками получали ежедневно добавку в виде небольшого количества свежего молока. На 18-й день (отмеченный прерывистой линией) диэты обеих групп обменены. (По Хопкинсу.)

Так, различными путями было установлено существование и выяснено значение четырех главных витаминов А, В, С и D. Исходя из указанных основных представлений, в течение последнего десятилетия предприняли огромную, крайне трудную работу по изучению точного физиологического действия витаминов, их распределения в различных веществах, составляющих нашу диэту, их стабильности при кулинарной обработке, консервировании и хранении пищевых продуктов; конечной целью этих исследований являлось установить химическую структуру витаминов и найти способы их синтезировать. Трудность работы с витаминами в основном зависела от того, что даже до сих пор мы почти не располагаем способами быстрого и простого химического определения и учета количества витаминов. И до сих пор витамины почти исключительно определяются качественно и количественно по их физиологическому эффекту, для чего необходимы опыты с кормлением, длящиеся часто ряд недель. Для целей дальнейшего изложения нам будет удобнее рассматривать витамины в алфавитной последовательности, а не в историческом порядке их обнаружения, как это мы делали раньше.

Витамина А больше всего содержится в печеночном жире рыб—трески, а в особенности палтуса; здесь он находится вместе с витамином D. Витамин А содержится также в значительном

количестве в печени домашних животных (быка, барана, свиньи); витамин D здесь отсутствует. В отличие от витамина D витамин A в небольших количествах содержится в овощах. Он не только ускоряет рост, но и повышает резистентность организма к бактериальным инфекциям. Во всяком случае определенно известно, что инфекция конъюнктивы и роговицы глаза, ведущая к ксерофтальмии, может быть вызвана у крыс отсутствием витамина A. Во время войны вспышка ксерофтальмии среди детей Копенгагена (некоторые из них в результате ослепли) определенно была приписана той же самой недостаточности витамина A.

В отношении химии витамина A мы располагаем в настоящее время исчерпывающими сведениями. Уже давно было замечено, что содержание витамина A в растительных продуктах соответствует количеству пигментов. Растительные пигменты, растворимые, подобно витамину A, в жирах, оказались сложными углеводородами, состоящими из длинной ненасыщенной углеродной цепи и часто из кольцевых структур. Эти вещества могут быть представлены углеводородом каротином $C_{40}H_{56}$, который является оранжевым пигментом моркови и дает имя каротиноидов всей этой группе веществ. Его строение таково:

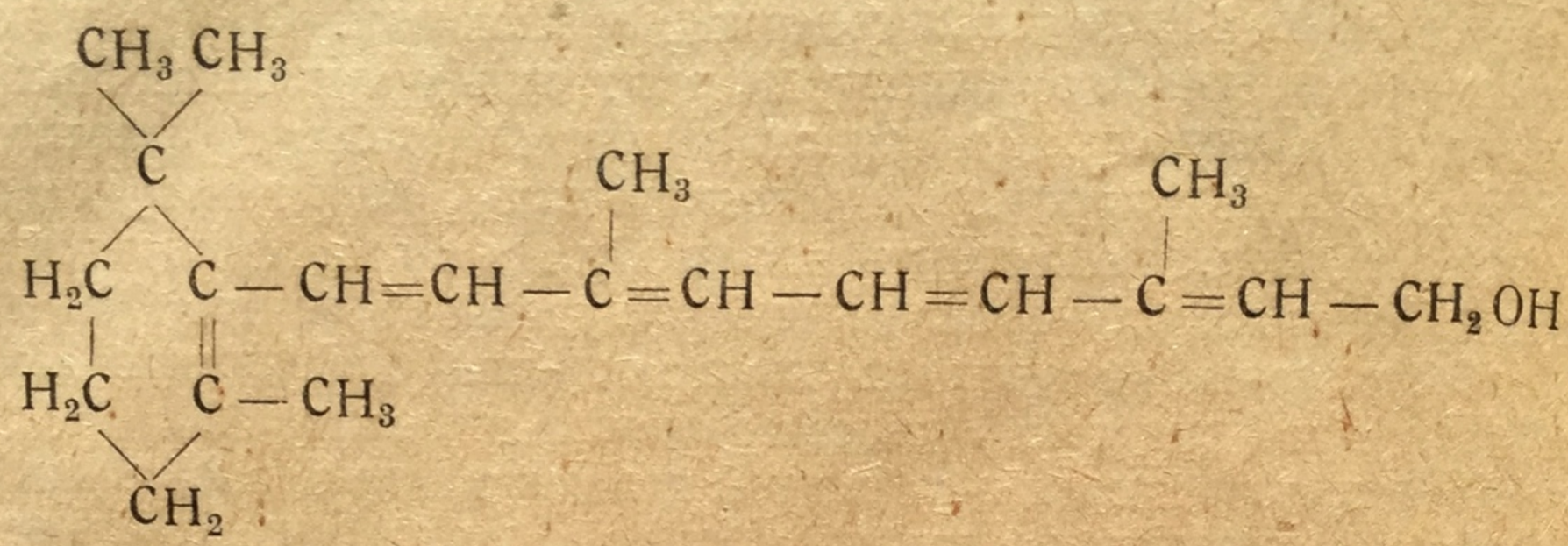


Каротин

Важное значение имело наблюдение, что хотя витамин A и не идентичен с каротином, но последний при скармливании животному превращается в витамин A и откладывается в печени (отсюда значение печени как источника витамина A).

В организме молекула каротина разрывается по середине длинной углеродной цепи с присоединением гидроксила, так что вита-

мин А содержит только одно из колец и половину ненасыщенной цепи каротина:



Витамин А

В последнее время удалось не только выяснить структуру витамина А, но и получить его синтетически, правда еще не в химически чистом виде, но все же в виде высоко активного препарата.

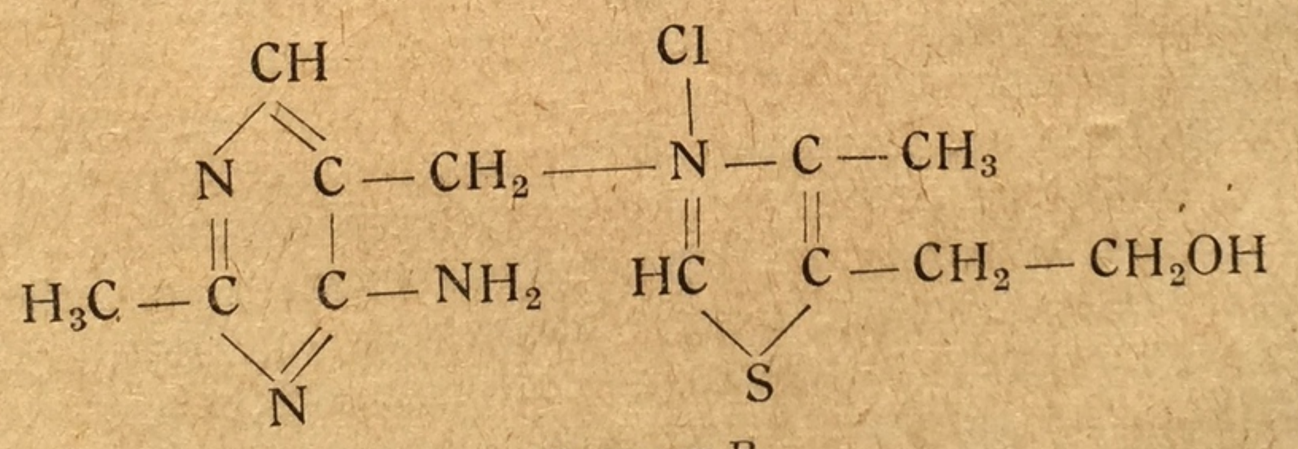
В изучении витамина В очень важную роль сыграло открытие, что здесь мы имеем дело с целым комплексом из нескольких витаминов. Сначала было установлено, что крыса для нормального роста нуждается не только в растворимом в жирах витамине А, но и в воднорастворимом факторе, который первоначально отождествляли с антиневритическим витамином В. Позднее было найдено, что добавление к диэте маиса (который хорошо предохраняет против бери-бери) все-таки не приводит к возобновлению роста. Очевидно, водный фактор, требующийся для роста, вовсе не идентичен с антиневритическим витамином. Витамин, предохраняющий от бери-бери, поскольку он был открыт раньше, получил название витамина B_1, между тем как фактор, ускоряющий рост, был обозначен символом B_2. Попутно следует заметить, что Гопкинс в своих экспериментах, о которых мы уже говорили, лишал крыс одновременно и витамина А, и витамина B_2; поэтому теперь неудивительно то значительное замедление роста, которое он получил. Но крысы, лишенные витамина B_2, не только отстают в росте; у них еще развиваются явления дерматита, похожего на человеческое заболевание пеллагру (итальянское pelle agra—грубая кожа). Пеллагра встречается среди питающегося маисом крестьянского населения Центральной Европы, а в последние два десятилетия появилась и среди необеспеченных классов населения южных штатов США. Эта тяжелая болезнь проявляется не только в виде кожного страдания, но и в виде воспаления всего кишечного канала, сопровождающегося поносом, и даже в нервных и душевных расстройствах. Гольдбергер показал, что пеллагра не вызывается ни инфекцией, ни (как позже думали) недостатком некоторых аминокислот в пище, но отсутствием воднорастворимого фактора, содержащегося в дрожжах. Вероятно (но это еще не окончательно доказано), этот фактор «PP» (предупреждающий пеллагру), или витамин G, как его назвал Гольдбергер, идентичен с витамином B_2. Было

найдено, что антиневритический витамин B_1 разрушается при нагревании в автоклаве до 100°, чего не наблюдается в отношении антипеллагрического витамина B_2.

Но этим еще не исчерпывается комплекс витаминов В. Было установлено, что крысы не растут, хотя и остаются здоровыми, когда получают очищенный антиневритический витамин B_1 и автоклавированный экстракт из дрожжей, содержащий фактор роста B_2. Они начинают расти, если к их пище добавить немного ненагретого экстракта дрожжей. Отсюда вытекает, что существует еще один витамин, необходимый для нормального развития крыс, разрушающийся при нагревании. Его обозначили как витамин B_4, между тем как символы B_3 и B_5 сохранили за витаминами дрожжей, необходимыми для нормального роста голубей.

Одна из значительных трудностей в изучении составных частей витаминного комплекса В заключается в том, что все его компоненты встречаются вместе. Наиболее выгодным источником их получения служат отруби и зародыши злаков, в первую очередь пшеницы и риса. Маис содержит только витамин B_1, но не содержит B_2. Дрожжи и их экстракт содержат все витамины комплекса В в изобилии, и потому их часто используют в химии витамина В.

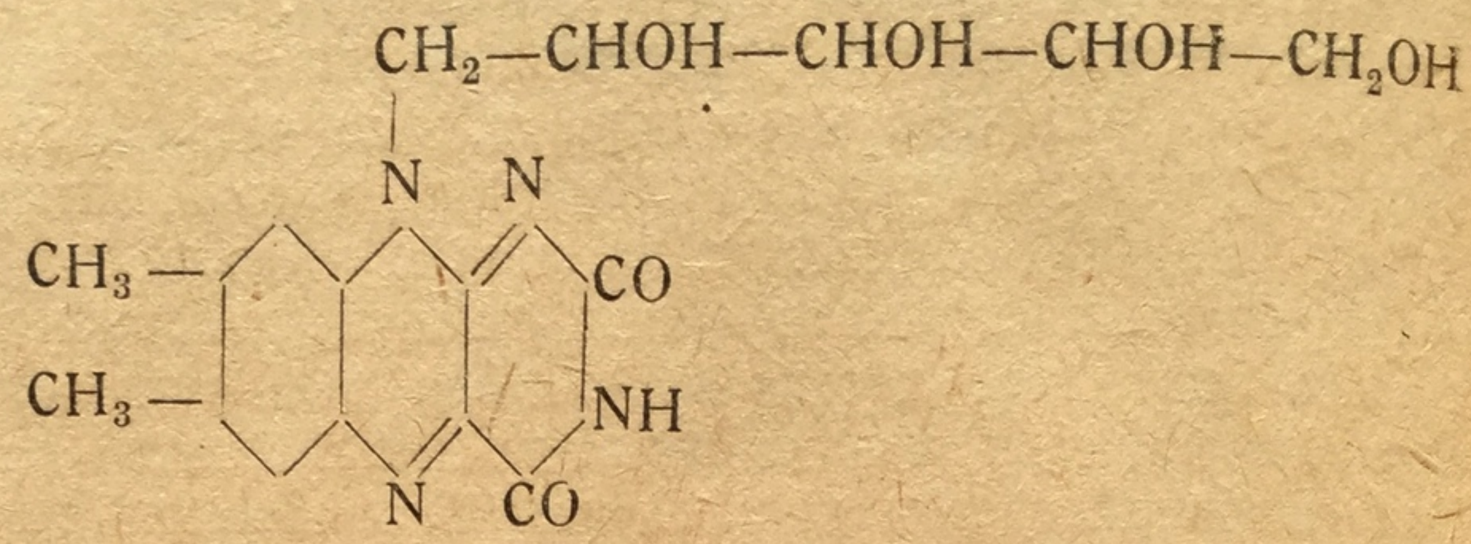
Лишь в отношении витаминов B_1 и B_2 мы можем изложить определенные данные об их химической структуре. Любопытно, что химическая структура витамина B_1, который был изолирован первым из всех витаминов, была расшифрована лишь в самое последнее время. Активные кристаллические препараты витамина B_1 были приготовлены из рисовых отрубей и из дрожжей. Молекула этого витамина содержит пиримидиновое кольцо, связанное с гетероциклическим кольцом, содержащим азот и серу, так называемым тиазоловым кольцом. Строение этого витамина следующее:



Витамин B_1

Для понимания структуры витамина B_2 нам необходимо будет познакомиться с химией ф л а в и н о в, о которых мы упоминали раньше как о составной части желтого дыхательного фермента. Флавины—желтые пигменты, которые могут быть получены из молока, яичного белка и т. п. Они характеризуются растворимостью в водной среде, почему и объединяются в группу л и о х р о м о в в противоположность жирорастворимым пигментам, объединяемым под общим названием л и п о х р о м о в. Флавины состоят из сложного гетероциклического комплекса «изоаллоксазина»,

соединенного с молекулой углевода; примером может служить лактофлавин, полученный из молока:



Лактофлавин

Ядро изоаллоксазина можно рассматривать, как состоящее из бензольного кольца, соединенного через два атома азота с шестичленным кольцом, в котором четыре углеродных атома и два атома азота расположены так же, как в пиримидиновой части пуринового ядра.

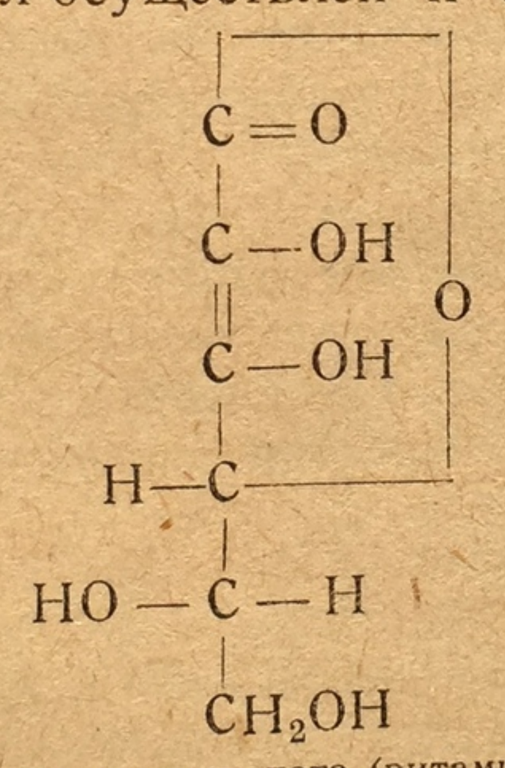
В настоящее время установлено, что витамин B_1 является флавином. Но флавины, ускоряя рост, не способны предупреждать пеллагру, для этого необходимо добавить еще дальнейшее вещество, получаемое из дрожжей; это обстоятельство побудило некоторых исследователей говорить о новом витамине—B_6.

В противоположность этим витаминам антицынготный витамин С сохранил свое единство. Его роль и распространение тщательно изучены; его присутствие в больших количествах установлено в цитрусовых плодах, например, в апельсинах и лимонах. Из сока лимонов могут быть получены концентраты витамина С, настолько крепкие, что 1 см³ по содержанию витамина соответствует приблизительно литру первоначального сока. Другим прекрасным источником витамина являются помидоры, причем антицынготные свойства их хорошо сохраняются и при консервировании. Много витамина С содержат зеленые овощи—капуста, салат, водяной кресс. Витамин С легче других разрушается при нагревании, поэтому его количество сильно убывает при варке овощей и зелени, особенно если для сохранения хорошей окраски прибавляют немного соды. Кроме капусты и салата, существует еще один представитель семейства крестоцветных, именно ложечная трава, Cochlearia officinalis, антицынготные свойства которой были уже давно известны, почему она и получила народное название —цынготная травка. Витамина С нельзя обнаружить в сколько-нибудь значительных количествах в сухих семенах; но, поскольку он имеется в зеленом растении, следует полагать, что он синтезируется в последнем во время прорастания. Таким образом, вполне подтверждается взгляд, имеющий уже 150-летнюю давность, что наиболее простой способ получения антицынготного средства заключается в проращивании сухих семян гороха, бобов или злаков. Теперь найден новый источник получения витамина С, необыкновенно им богатый, в виде красного перца,

составляющего обычную принадлежность стола в Центральной Европе.

Интересен тот факт, что не все животные одинаково реагируют на отсутствие витамина С. Крысы, например, являющиеся столь излюбленным объектом экспериментов по изучению витаминов, ни при каких обстоятельствах не заболевают цынгой. Поэтому при работах с витамином С обычно пользуются морскими свинками, после того как в 1912 году Хольст установил, что они заболевают типичной цынгой при отсутствии в их пище зеленых растений.

Потребовались два десятилетия, прежде чем витамин С был изолирован и была установлена его химическая природа. Он оказался идентичным с кислотой $C_6H_8O_6$, еще раньше обнаруженной венгерским ученым Сцент-Гьорги в лимонах, капусте, а также и в коре надпочечников. Эту кислоту можно рассматривать как продукт окисления гексозы; она обладает лабильными водородными атомами, поскольку может существовать в окисленной и восстановленной форме, и, вероятно, играет роль в катализе тканевых окислительных процессов. Она является прекрасным средством от скорбута морских свинок. Это послужило причиной ее названия: аскорбиновая кислота. Современные успехи изучения витамина С не ограничились определением его строения, но был осуществлен и его синтез:

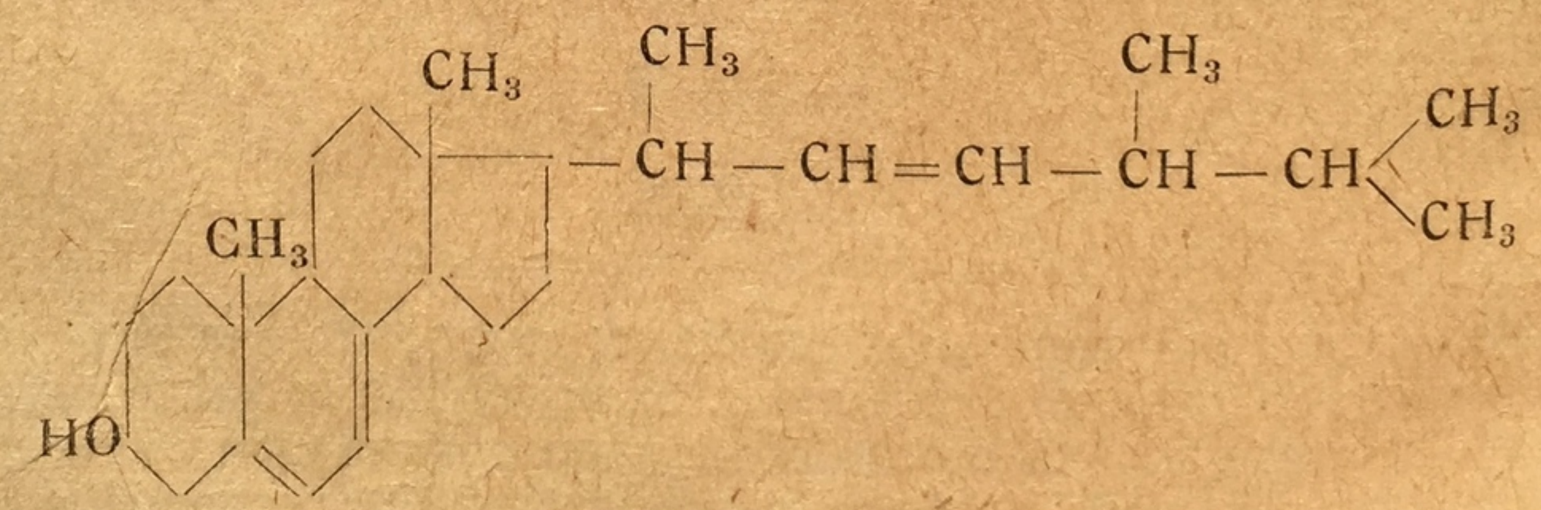


Аскорбиновая кислота (витамин С)

Из формулы аскорбиновой кислоты видно, что она не обладает свободной карбоксильной группой. Если она тем не менее способна давать натриевую соль, то это объясняется наличием обладающей слабыми кислотными свойствами группы С·ОН, стоящей в непосредственном соседстве с группой СО.

Последние годы в ряде стран ознаменовались печальным обилием удобных случаев для изучения витамина D и последствий его отсутствия. Например, в результате недостаточного питания во время и после так называемой «Великой» войны среди детского населения Вены пышно развился рахит. Среди взрослых часто наблюдались случаи остеомаляции (хрупкость, размягчение и деформация костей). Легко и убедительно можно было установить, что эти заболевания являются результатом не бактериальной инфек-

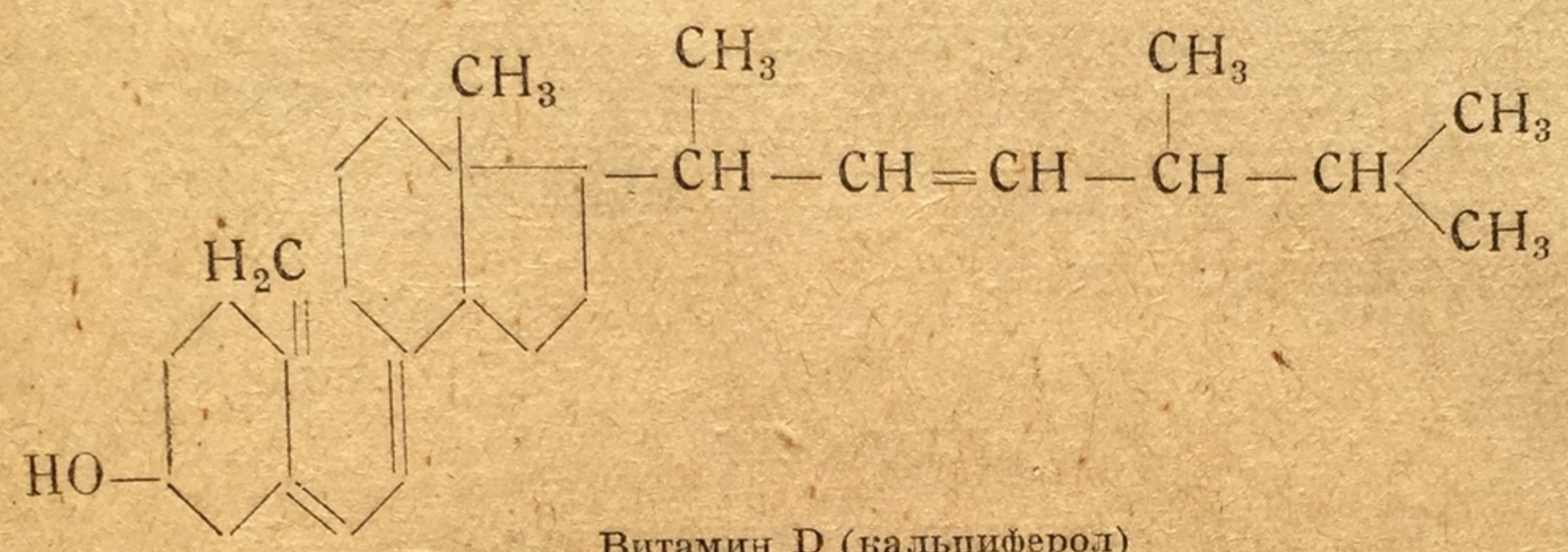
ции, а обусловлены отсутствием антирахитического витамина. Больные излечивались, принимая рыбий жир, являющийся обильным и доступным источником витамина D. Уже за несколько лет перед этим укрепилось мнение, что возникновение рахита в некоторой степени связано с отсутствием солнечного света; это видно было из того, что рахит чаще всего встречается у обитающих в темных и нездоровых жилищах жителей городов. Научные работники Вены использовали удобный случай для разрешения этого вопроса и на большом материале показали, что рахит предупреждается или даже излечивается солнечным светом. Позднейшие эксперименты на собаках полностью подтвердили эти результаты и показали совершенно ясно, что животные, содержащиеся на свету, не заболевают рахитом, даже если они получают диэту, которая вызывает заболевание у таких же животных, лишенных солнечного света. Далее было установлено, что для предупреждения рахита достаточно подвергнуть солнечному облучению даже не самое животное, а только его пищу. Здесь уже стало ясно, что действие солнечного света заключается в образовании витамина D из каких-то веществ, имеющихся как в пищевых продуктах, так и в самих животных тканях. Дальнейшие шаги заключались в поисках того вещества, которое служит источником образования витамина D. Скоро было установлено, что это вещество относится к стеринам. Первоначально думали, что это холестерин, но впоследствии выяснилось, что предшественником витамина D является не холестерин, а более ненасыщенный эргостерин, который уже давно был получен из спорыньи. Формула эргостерина $C_{28}H_{43}OH$. Он обладает тем же сложным скелетом конденсированных колец, как и все стерины, но содержит три двойные связи вместо одной, имеющейся у холестерина. Одна из этих связей находится в боковой цепи. Строение эргостерина следующее:



Эргостерин

Из эргостерина под действием ультрафиолетовых лучей и образуется витамин D. Процесс облучения эргостерина теперь значительно усовершенствован и проводится следующим образом. Раствор эргостерина в эфире циркулирует несколько часов по кварцевой трубке, облучаемой ртутнокварцевой лампой. При этом эргостерин превращается в смесь различных производных, из которой подходящими методами может быть выделен витамин D. Этот синтетический витамин обладает мощным специ-

фическим действием: одна часть его способствует отложению трех миллионов частей фосфорнокислого кальция в костях подопытного животного. Поэтому синтетический витамин получил название «к а л ь ц и ф е р о л». Он оказался изомерным с эргостерином, из которого он был получен. Облучение, очевидно, вызывает в эргостерине некоторые интрамолекулярные перемещения, ведущие к раскрытию того кольца, которое содержит двойные связи. Получающееся в результате этого превращения соединение имеет следующее строение:



Витамин D (кальциферол)

Вопрос о том, каким образом витамин способствует транспорту и всасыванию кальция в организме, еще ожидает своего разрешения.

Наконец, мы еще упомянем, что совсем недавно открыт в и т а м и н Е. Этот витамин необходим для обеспечения плодовитости крыс—как самок, так и самцов. Он содержится во многих животных и растительных пищевых продуктах; он растворим в жирах и в наибольших концентрациях встречается в масле, полученном из семян и других растительных тканей. До недавнего времени крысы были единственными животными, для которых была установлена потребность в витамине Е. Но теперь имеются указания, что наличие или отсутствие витамина Е определяет также направление развития личинки пчелы: получится ли из нее матка или бесплодная рабочая пчела. О значении витамина Е при размножении человека сейчас еще практически ничего неизвестно.

В заключение мы остановимся еще раз на значении витаминов в питании человека. Из всего, что говорилось выше, вытекает, что витамины представляют собой нечто бо̀льшее, чем просто заманчивую проблему для химика-органика. Достаточное снабжение ими обеспечит полное уничтожение ряда болезней, вызванных недостаточным и неправильным питанием. Блестящие успехи в отношении синтеза витамина D являются радостным событием для каждого, кто соприкасается с проблемой оздоровления условий жизни в перенаселенных городах. С другой стороны, необходимо настоятельно подчеркнуть, что потребность в витаминах существует не только в далеких плаваниях, арктических экспедициях и осажденных городах, но распространяется на все мирное население, занятое повседневной работой. Конечно, хорошо питающийся индивидуум, выбирающий себе полноценную смешанную пищу, не подвергается опасности заболеть рахитом, цынгой или бери-бери.

Но совершенно иначе дело обстоит с детьми: они получают то, что им дают. Всякий, имеющий дело с питанием других, должен учитывать, например, такие обстоятельства, как большая изменчивость содержания витаминовв молоке. Установлено, что молоко коров зимой, когда их не выпускают из стойл и они питаются жмыхами и сеном, содержит маловитаминов C и D; далее установлено, что количество последних резко убывает при стерилизации молока кипячением и при приготовлении молочного порошка. Дети, питающиеся таким молоком, могут заболеть рахитом с характерными нарушениями костного аппарата и даже душевными расстройствами или цынгой с изъязвлением десен, костными болями и общей возбудимостью. Отсюда видно, какое важное значение в детскомп итании имеет добавление рыбьего жира и апельсинного сока.

ГЛАВА XV

ЗАЩИТНЫЕ СИНТЕЗЫ

Обезвреживание ядовитых веществ, принятых внутрь или образовавшихся в тканях под влиянием процессов обмена или действия бактерий, происходит в организме несколькими путями. Всем известно образование так называемых антител, которые взаимодействуют с ядами, или токсинами, выделяемыми бактериями и нейтрализуют их. Другое весьма важное приспособление, позволяющее организму бороться с действием ядов, заключается в процессах, известных под названием защитного синтеза. При этих процессах ядовитые вещества, отличающиеся сравнительно простым химическим строением, превращаются в организме в более сложные комплексы, уже не обладающие ядовитыми свойствами исходного вещества. В таком состоянии ядовитые вещества затем выводятся из организма.

Возьмем для примера явление, наблюдающееся при введении в организм животного бензойной кислоты. Это соединение не может быть окислено тканями; поэтому оно, оставаясь в организме в неизмененном виде, могло бы оказать ядовитое действие на ткани. Оказывается, однако, что бензойная кислота остается неизмененной очень недолго: она вступает в соединение с гликоколом, образуя более сложное и притом сравнительно безвредное вещество— гиппуровую кислоту, которая затем выделяется почками.

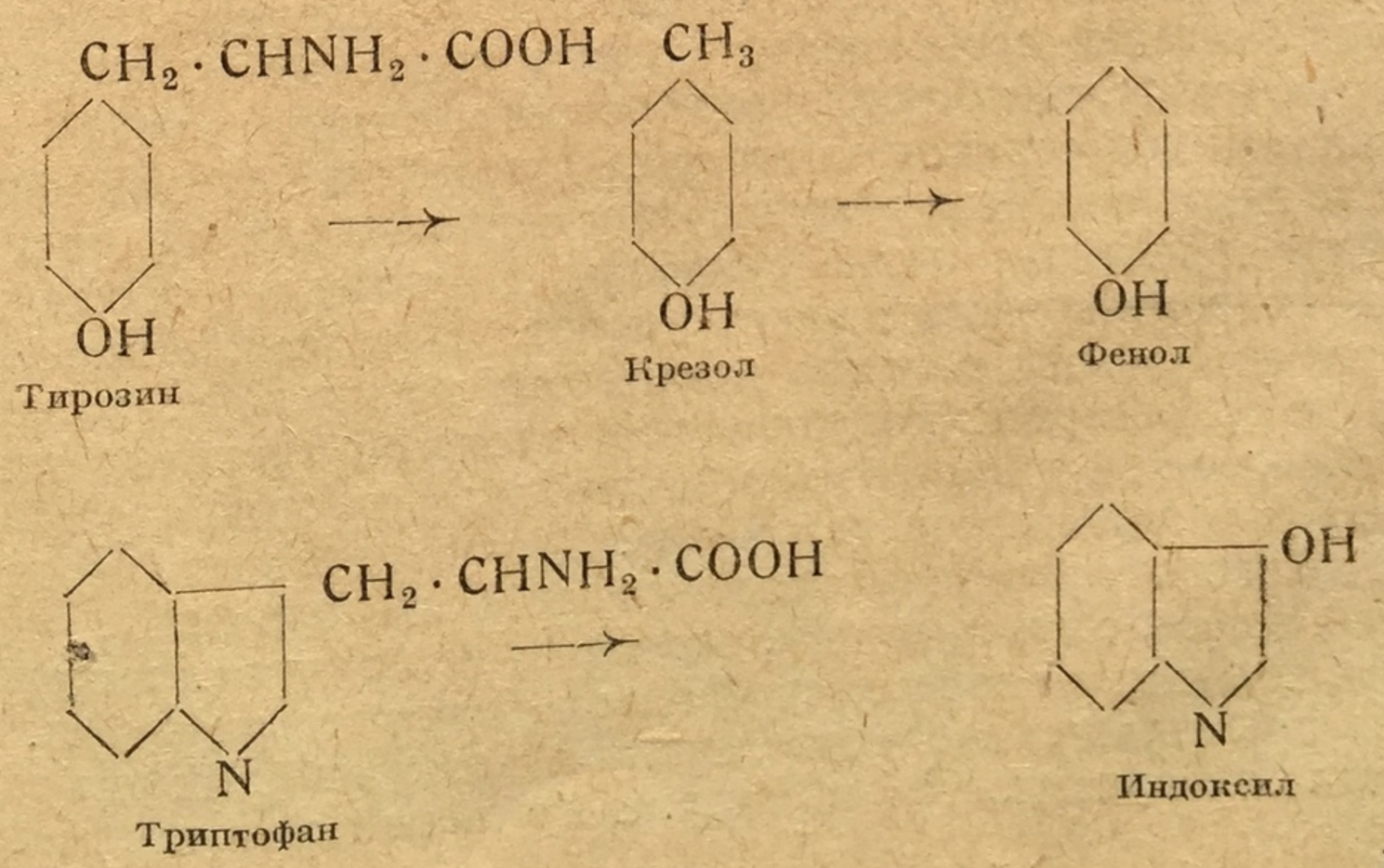
Гиппуровая кислота представляет собой бензоилгликокол и образуется следующим путем:

$$\underset{\text{Бензойная кислота}}{C_6H_5CO\boxed{OH+H}} \; \underset{\text{Гликокол}}{HN\cdot CH_2\cdot COOH} \rightarrow \underset{\text{Бензоилгликокол (гиппуровая кислота)}}{C_6H_5\cdot CO\cdot NH\cdot CH_2\cdot COOH}$$

Это типичный пример так называемого защитного синтеза. Организм как бы защищает себя от действия бензойной кислоты,

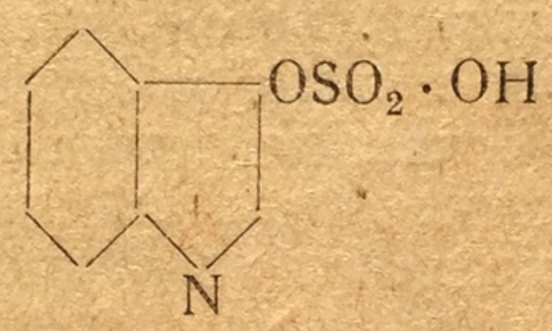
синтезируя из нее более сложное и вместе с тем менее вредное соединение. Неудивительно, что для этой цели организм пользуется гликоколом, ибо ткани всегда содержат эту аминокислоту в изобилии: она обычно содержится в большом количестве в пище, а если она доставляется в недостаточном количестве, то организм в состоянии синтезировать ее. Бензоилгликокол называют гиппуровой кислотой потому, что он содержится постоянно в моче лошадей (от греческого hyppos—лошадь) и других травоядных животных Животные, питающиеся преимущественно растительной пищей, поглощают вместе с ней значительное количество бензойной кислоты и поэтому пользуются этим защитным механизмом шире, чем животные, потребляющие мало растительной пищи. Поэтому в моче лошади содержание гиппуровой кислоты больше, чем в моче человека.

Наряду с образованием гиппуровой кислоты организм располагает и другими способами защиты от ядовитых циклических соединений. Известно, что кишечный канал изобилует бактериями. Среди реакций, вызываемых кишечными микроорганизмами, наиболее важной с интересующей нас в данный момент точки зрения является расщепление ими триптофана и тирозина. Бактерии, так сказать, «пожирают» часть боковой цепи этих соединений; остающиеся после этого вещества, в которых содержится неизмененное циклическое ядро, не могут быть окислены в организме. Выше было упомянуто, что тирозин и триптофан занимают особое положение среди циклических соединений, так как они в организме подвергаются полному окислению. Однако достаточно сравнительно незначительного изменения структуры боковой цепи, чтобы окисление ядра стало невозможным. В результате действия микробов кишечного канала из тирозина образуется фенол и крезол, а из триптофана—индоксил. Способ образования этих веществ ясен из их формул; и в том, и в другом случае ядро остается неприкосновенным, тогда как воздействию подвергается боковая цепь:



Эти фенолы весьма ядовиты, и поэтому поступление их в кровяное русло было бы вредным для организма. Всосавшись из пищеварительного канала и дойдя до печени, они соединяются в ней с серной кислотой, превращаясь в так называемые эфиросерные кислоты. Остаток серной кислоты присоединяется к гидроксильной группе и нейтрализует, таким образом, ядовитое действие, присущее гидроксилу в этих соединениях. Поэтому эфиросерные кислоты фенола, крезола и индоксила значительно менее ядовиты, чем сами исходные вещества; они циркулируют в кровяном русле, не оказывая вредного действия, и доставляются к почкам, которые их выделяют в составе мочи.

Одна из эфиросерных кислот, индоксилсерная кислота, или индикан, имеет особое значение, так как ее легко можно обнаружить, пользуясь специальной реакцией



Индикан

Для этого нужно прибавить к моче несколько больше одного объема крепкой соляной кислоты и одну, самое большее две, капли 2% хлорноватокислого калия (бертолетовой соли). Индикан при этом окисляется в синее индиго. Образование индиго легче установить, извлекая его встряхиванием смеси с несколькими каплями хлороформа. Нормальная моча при этих обстоятельствах дает только очень слабые следы синего окрашивания хлороформа. Более интенсивное окрашивание указывает на ненормально повышенное образование эфиросерных кислот в результате усиления бактериального распада белков—например, в кишечнике при запоре или в больших абсцессах. Этот качественный диагноз может быть дополнен количественным определением эфиросерных кислот в моче. Для этого сначала определяют количественно неорганические сернокислые соли в пробе мочи, а затем, взяв вторую пробу, гидролизуют эфиросерные кислоты кипячением мочи с разведенной соляной кислотой. Определение сернокислых солей после гидролиза дает общую сумму сернокислых соединений, куда войдут и неорганические сульфаты и сульфаты, освободившиеся при гидролизе эфиросерных кислот. Неорганические сульфаты были определены раньше; количество же сульфатов, связанных в виде эфиросерных кислот, теперь легко определить по разности.

Образование гиппуровой кислоты и эфиросерных кислот имеет место и в нормальном организме. Заслуживает особого внимания способность организма воздействовать на вещества, абсолютно ему чуждые, с которыми он, вероятно, не приходил никогда в соприкосновение в процессе своего эволюционного развития. Это дает нам представление о синтетических возможностях протоплазмы, когда она оказывается в совершенно новой для нее химической

ситуации. Кроме того, многие такие «чужеродные» вещества употребляются в качестве лекарств, и при проведении анализа мочи для правильной оценки результатов анализа небесполезно знать, в какой форме они выделяются из организма. Возьмем в качестве примера бромбензол C_6H_5Br. Из органической химии известно, что это—химически весьма инертное веществ, галоидный атом которого, соединившись с кольцом бензола, не проявляет той высокой активности, с которой у нас связывается представление о броме. Бром и не отщепляется живыми тканями, но в организме бромбензол реагирует с аминокислотой цистеином, давая бромфенилцистеин в виде ацетильного деривата. Это соединение, носящее название м е р к а п т у р о в о й к и с л о т ы, выделяется затем в составе нейтральной серы мочи.

$$\begin{array}{l} CH_2 - S - C_6H_4Br \\ | \\ CH - NH - CO - CH_3 \\ | \\ COOH \end{array}$$

Меркаптуровая кислота

Часть бромбензола выделяется в виде эфиросерной кислоты, что свидетельствует о том, что организм способен вводить группу OH в кольцо бензола. Аналогичным образом даже сам бензол, вопреки большой стабильности своего кольца, образует эфиросерную кислоту в организме, а это значит, что предварительно он превращается в фенол. В лаборатории же окисление бензола в фенол требует обработки его дымящейся серной кислотой и затем сплавления образовавшейся сульфоновой кислоты с поташом.

Дальнейший способ обезвреживания чужеродных веществ заключается в соединении их с продуктом окисления глюкозы, с г л ю к у р о н о в о й к и с л о т о й:

$$\begin{array}{l} C{=}O \\ | \quad H \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array}$$

Глюкуроновая кислота

Этим путем из организма удаляют не только фенол, который мог бы, например, попасть из промываемой им раны, но и ряд других лекарственных веществ, назначаемых внутрь, как, например, антипирин и многие другие.

Альдегидная группа глюкуроновой кислоты свободна, поэтому она восстанавливает фелингову жидкость и может создать неверное впечатление о наличии в моче сахара. Отсюда вывод—не придавать положительной фелинговой пробе в моче какого-либо значения, не осведомившись предварительно о том, какие лекарства принимал перед этим исследуемый субъект.

В дополнение ко всему сказанному выше следует указать, что организм способен в некоторых случаях восстанавливать группу NO_2 в NH_2, ацетилировать аминогруппы и даже вводить в кольцо (например, пиридина) группу CH_3. Но детальное рассмотрение всех этих процессов не входит в нашу задачу. Мы ограничиваемся лишь этими беглыми указаниями, чтобы дать читателю представление о том, какая интересная область тут открывается.

ГЛАВА XVI

ПИГМЕНТЫ ЖИВОТНОГО ОРГАНИЗМА

Пигменты организма образуют группу веществ, химия которых отличается значительной сложностью. Наиболее важным из встречающихся в животном организме пигментов является г е м о г л о б и н—красное красящее вещество красных кровяных шариков. Для нас он представляет интерес в трех отношениях. Во-первых, при дыхании он играет роль переносчика газов: кислорода и углекислоты; во-вторых, он дает при своем разложении в организме пигменты желчи и кала и один из пигментов мочи; в-третьих, наконец, из него образуется ряд дериватов и родственных соединений, представляющих большой интерес как с чисто химической точки зрения, так и в качестве веществ, появляющихся в организме при ненормальных условиях—под влиянием ядов или вследствие нарушений обмена веществ. Мы коснемся всех этих особенностей гемоглобина, но в несколько ином порядке, остановившись сперва на химических свойствах гемоглобина и его производных. Затем мы перейдем к тем превращениям, которым эти вещества подвергаются в организме, а вопрос о переносе газов крови отложим до следующей главы.

По своему химическому строению гемоглобин принадлежит к группе протеидов, т. е. представляет собой комплексное вещество, состоящее из белка, г л о б и н а, и небелкового вещества, носящего название г е м а. Глобин представляет собой свертывающийся белок, нерастворимый в воде, но растворяющийся в растворах солей и характеризующийся высоким содержанием гистидина. Гем—соединение железа со сложной органической субстанцией, п р о т о п о р ф и р и н о м, со строением которого мы познакомимся несколько ниже.

Гемоглобин занимает в ряду белков обособленное место в том отношении, что его легко получить в кристаллическом виде. Из крови некоторых животных, в частности, лошади, можно получить гемоглобин в кристаллическом виде, просто отцентрифуги-

ровав эритроциты и разрушив их (гемолизировав) прибавлением эфира. При этом получается раствор гемоглобина, из которого на холоду постепенно выпадают кристаллы этого пигмента. В других случаях необходимо прибавить немного спирту, чтобы гемоглобин выпал из раствора.

Наиболее характерным свойством гемоглобина является его способность давать с кислородом легко диссоциирующее соединение—оксигемоглобин. В сущности, при указанном способе приготовления получается именно это соединение, так как тот гемоглобин, который не был насыщен кислородом в исходной крови, поглощает его из воздуха, соприкасаясь с ним во время обработки. Чистый гемоглобин, или, как его нередко называют, восстановленный гемоглобин, может быть получен из оксигемоглобина путем отнятия от него кислорода. Этого можно достигнуть, помещая его в безвоздушное пространство или в лишенную кислорода атмосферу или же подвергая действию восстанавливающих веществ. Теперь обычно применяют в качестве восстановителя гидросульфит натрия.

Восстановленный гемоглобин окрашен в пурпурный цвет. При встряхивании с воздухом гемоглобин снова поглощает кислород и превращается в оксигемоглобин. Для отличия этих пигментов друг от друга можно пользоваться их окраской, прибегая для этой цели к следующему методу. Окраска этих веществ зависит от того обстоятельства, что при прохождении белого света через их раствор часть цветных лучей, из которых, как известно, состоит белый свет, поглощается раствором; остальные же цветные лучи, не претерпевшие изменения, доходят до глаза наблюдателя. Если разложить белый свет при помощи призмы, то при этом образуется спектр, т. е. входящие в состав его цветные лучи (или, что то же, лучи различной длины волны) располагаются в определенном порядке. При рассматривании такого спектра через слой какого-нибудь окрашенного вещества оказывается, что оно поглощает лучи только определенной длины волны и пропускает остальные лучи. Наблюдатель увидит поэтому только некоторые части окрашенного спектра, тогда как прочие отделы, соответствующие поглощенным пигментом лучам, представятся ему в виде темных полос поглощения. Часть окрашенного спектра, проходящая через раствор, называется спектром поглощения. Ввиду того, что каждому пигменту соответствует особый характерный для него спектр поглощения, эти вещества легко могут быть различимы при помощи спектроскопа. На практике белый свет сперва пропускают через испытуемый раствор, а затем уже анализируют прошедшую через него смесь лучей при помощи призмы спектроскопа, чтобы установить, какие длины волны подверглись поглощению. При тщательном рассматривании спектра солнечного света можно убедиться, что он не является непрерывным, а исчерчен множеством тонких черных линий, получивших по имени открывшего их ученого название фраунгоферовых линий. Эти линии являются не чем иным, как очень узкими полосами по-

глощения веществ, содержащихся в виде паров в атмосфере солнца и поглощающих некоторые лучи из белого света, испускаемого центральной раскаленной массой. Одна из наиболее заметных линий обозначается буквой D; установлено, что она представляет собой полосу поглощения паров натрия. Она соответствует длине волны в 589 миллионных миллиметра (589 mμ).

Путем измерения длины волн, соответствующих другим фраунгоферовым линиям, удалось построить шкалу длин волны, дающую возможность точно определить положение на спектре полос поглощения различных пигментов. Следует отметить, что деления этой шкалы имеют не одинаковый размер, так как призма спектроскопа рассеивает лучи фиолетовой части сильнее, чем лучи красной части.

Наблюдая спектр поглощения оксигемоглобина в неслишком концентрированных растворах, легко убедиться, что свет сильнее всего поглощается в двух местах, расположенных близко одно от другого в зеленой части спектра. Оксигемоглобин дает таким образом спектр поглощения с двойной полосой. Восстановленный гемоглобин, напротив, дает только одну полосу поглощения, занимающую все пространство между наружными краями обеих полос поглощения оксигемоглобина (см. прил. таблицу спектров).

Для гемоглобина характерна его способность вступать в соединение с газами. Среди этих соединений вторым по важности после оксигемоглобина является соединение гемоглобина с окисью углерода, или угарным газом. Гемоглобин еще легче, чем с кислородом, вступает в соединение с окисью углерода, образуя к а р б о к с и г е м о г л о б и н (более правильное, но менее принятое название—к а р б о н и л г е м о г л о б и н). Поэтому при действии на гемоглобин смеси газов, содержащей даже менее $^1/_{300}$ окиси углерода по отношению к кислороду, оксигемоглобина и карбоксигемоглобина образуется почти одинаковое количество. В светильном газе содержится значительное количество окиси углерода, так что при пропускании его через разбавленную кровь образуется карбоксигемоглобин. Это вещество во многих отношениях отличается от оксигемоглобина. Алый цвет растворов карбоксигемоглобина имеет несколько синеватый оттенок. Спектр его содержит две полосы поглощения в зеленой части, расположенные несколько ближе к фиолетовому концу спектра, чем полосы оксигемоглобина, что можно видеть на таблице. Простая проба, позволяющая отличить раствор оксигемоглобина от раствора оксиуглеродного соединения, заключается в разбавлении того и другого водой до слабой окраски. Оказывается, что оксигемоглобин в очень разведенном виде имеет скорее желтый цвет, чем красный, тогда как карбоксигемоглобин сохраняет синевато-красный оттенок даже в таком разбавлении, при котором окраска раствора едва уловима. Химически карбоксигемоглобин отличается от оксигемоглобина тем, что он не может быть восстановлен гидросульфитом натрия и другими восстанавливающими реактивами. Способностью окиси углерода вытеснять кислород из оксигемоглобина объясняются ядо-

витые свойства светильного газа, газа автомобильных двигателей, рудничного газа угольных копей и т. д.

При действии на оксигемоглобин окисляющих веществ (обычно для этой цели пользуются железосинеродистым калием), он отдает весь свой кислород в газообразном виде. Получающийся при этом восстановленный гемоглобин тотчас же опять окисляется железосинеродистой солью; но теперь образуется уже не оксигемоглобин, а бурое вещество, называемое метгемоглобином. Эта реакция имеет важное значение, так как, собрав выделенный кислород и измерив его объем, можно судить о количестве содержащегося в растворе гемоглобина. Метгемоглобин не отдает кислорода в вакууме, но может быть восстановлен в гемоглобин химическим путем, например, при действии гидросульфита.

Прежде считалось, что он является изомером оксигемоглобина и отличается от последнего только тем, что кислород в нем связан более прочно. Однако, согласно исследованиям новейшего времени, метгемоглобин представляет собой соединение гемоглобина с одним только атомом кислорода, тогда как в оксигемоглобине содержатся два атома кислорода. На основании еще более новых электрохимических работ было установлено, что важнейшее различие между метгемоглобином и оксигемоглобином заключается не столько в различном содержании кислорода, сколько в том, что в метгемоглобине железо находится в окисном (трехвалентном) состоянии, тогда как в оксигемоглобине и в восстановленном гемоглобине оно содержится в закисной (двухвалентной) форме. Из этого следует, что при связывании кислорода гемоглобином перехода железа из закисного состояния в окисное не наблюдается. Метгемоглобин дает характерную полосу поглощения в красной части спектра наряду с двумя слабыми полосами в зеленой и диффузным поглощением синих лучей. Метгемоглобин получается при действии на гемоглобин целого ряда веществ; этим объясняется присутствие его в крови рабочих химической промышленности, которым приходится работать в атмосфере, содержащей окислы азота или пары нитробензола.

Мы рассмотрели важнейшие из непосредственных производных гемоглобина, в которых основная структура молекулы остается не нарушенной. Перейдем теперь к описанию веществ, получающихся при постепенном расщеплении первоначальной сложной молекулы.

Если раствор оксигемоглобина обработать несколькими каплями раствора едкого натра и нагреть, то образуется коричневый, растворимый в алкоголе пигмент, обозначаемый часто как гематин[1].

---

[1] Было бы лучше, во избежание путаницы, не применять для этого продукта название «гематин», а сохранить этот термин исключительно для обозначения вполне определенного соединения, именно для аналога гемина (см. ниже), содержащего вместо имеющегося в гемине хлора гидроксильную группу. Другими словами, гематин представляет собой основание, солянокислой солью которого является гемин. (Ред.)

Одно время полагали, что действие щелочи заключается в разрыве связи между глобином и небелковой частью молекулы, и получаемый, таким образом, пигмент рассматривался как свободный порфириново-железный компонент молекулы гемоглобина, но это представление теперь опровергнуто. Если мы обработаем восстановленный гемоглобин щелочью или соответственно подействуем на оксигемоглобин восстановителем и щелочью вместе, то мы получим восстановленный «щелочной гематин», который называется также г е м о х р о м о г е н о м. Это бледнокрасный пигмент с двумя узкими полосами поглощения в зеленой части спектра, одна из которых темнее, тоньше и более резко очерчена, чем другая; образование гемохромогена применяется как качественная проба на кровь в моче, в подозрительных пятнах тканей, оружия и т. д. Пятно экстрагируется раствором едкой щелочи, к экстракту прибавляют немного гидросульфита натрия, и смесь подогревают до температуры тела. Если исследуемый пигмент действительно является кровью, то раствор становится розовым и в спектроскопе показывает характерные полосы поглощения гемохромогена.

Другой реакцией на кровь, продукты которой имеют теоретическое значение, является образование кристаллов г е м и н а. Если капельку крови или частичку кровяного пятна поместить на предметное стекло, подсушить, прибавить каплю ледяной уксусной кислоты и небольшой кристалл хлористого калия или натрия, то после подогревания смеси, покрытой покровным стеклом, до кипения, наблюдается образование маленьких коричневых кристаллов ромбической формы. Это—кристаллы гемина, представляющего собой солянокислый гем, не связанный с глобином.

Если, как это одно время предполагали, получаемый при обработке гемоглобина щелочью гематин действительно является свободным от глобина порфириновым железосодержащим комплексом восстановленного гемоглобина, а гемохромоген—таким же комплексом оксигемоглобина, то было бы легко осуществить превращение гемина в гемохромоген, прибавляя к раствору гемина соду или поташ и какой-либо редуцирующий агент. Но это оказалось невозможным: гемин не может быть превращен в гемохромоген одним прибавлением щелочи и восстановителя, для этого обязательно нужно прибавить белок или аминокислоты или другие азотсодержащие вещества, которые могли бы заменить белок. При обычных методах приготовления гематина и гемохромогена из гемоглобина в качестве белкового компонента присутствует глобин; из этого следует заключить, что гематин и гемохромоген еще содержат глобин как составную часть своей молекулы: при обработке гемоглобина щелочью глобин не отщепляется и не получается в свободном виде. Причина, почему все это не было установлено много раньше, заключается в том, что прежде все исследователи в качестве щелочи употребляли аммиак. Аммиак может заменять собой глобин: он является самым простым производным

азота, и в качестве такого азотистого основания образует «аммониевый гемохромоген», спектр которого смешивали со спектром истинного «глобинового гемохромогена». Даже такие вещества, как никотин и пиридин, могут давать свои соответствующие гемохромогены. Это обстоятельство использовано в реакции Такаяма на кровь: исследуемый материал подсушивается на стекле, обрабатывается на холоду смесью пиридина, едкого натра и глюкозы в качестве восстановителя; с таким реактивом гемоглобин легко образует многочисленные характерные розовые кристаллы «пиридинового гемохромогена».

В чем же различие между гемоглобином, с одной стороны, и гематином и гемохромогеном—с другой, если все они, как мы видели, содержат и глобин, и гем? В настоящее время на этот вопрос отвечают, что глобин в гемоглобине находится в «нативном» состоянии, т. е. он не подвергался обработке какими-либо реактивами, в то время как в дериватах гемоглобина под действием применяемой для их получения щелочи глобин претерпел некоторые, невыясненной еще природы, изменения, обозначаемые как «денатурирование». Таким образом, гемоглобин является соединением гема закисного железа с нативным глобином, в то время как гемохромоген—это соединение гема закисного железа и денатурированного глобина.

Как мы уже упоминали, если гемоглобин оставить на воздухе, то он присоединяет по два атома кислорода на каждый атом железа, но при этом железо не окисляется в окисную форму. Чтобы это сделать, необходимо провести окисление гемоглобина более сильными окислителями, чем кислород воздуха. Мы употребляем для этого красную кровяную соль, которая дает метгемоглобин, являющийся соединением гема окисного железа с нативным глобином.

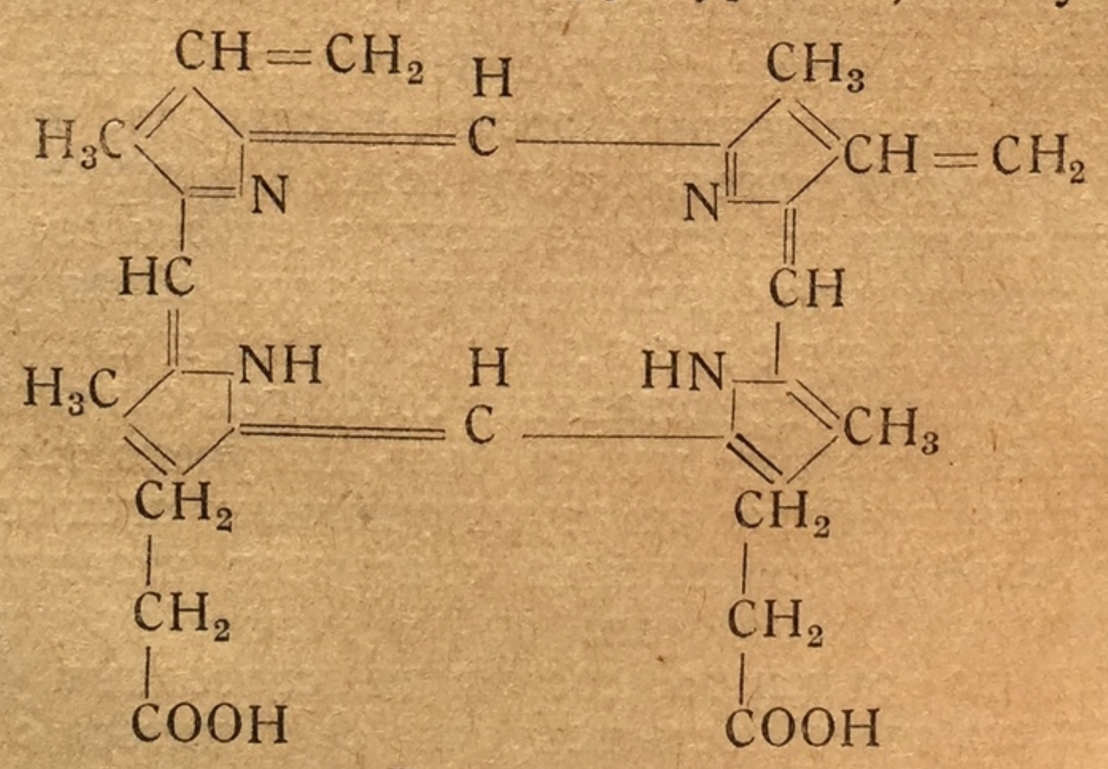
Если железо гемоглобина окислилось до окисного состояния, то образовавшееся соединение уже не может больше удерживать два непрочно присоединенных атома кислорода, и они тотчас отщепляются. С другой стороны, когда более или менее нейтральный раствор гемохромогена остается на воздухе, его железо окисляется свободным кислородом до окисного, и при этом образуется парагематин или катгемоглобин. Как и следует ожидать, это соединение, которое представляет собой гем окисного железа+денатурированный глобин, может быть получено также и путем обработки метгемоглобина денатурирующими агентами. Отсюда следует, что глобин гемоглобина оказывает известное влияние на поведение гема, с которым он соединен, предохраняя его от окисления до окисного состояния свободным кислородом и обеспечивая его способность непрочно соединяться с этим газом; это свойство утрачивается, когда глобин денатурируется, как в гемохромогене.

Коричневый гематин, о котором мы упоминали как о промежуточной стадии получения гемохромогена из оксигемоглобина, повидимому, является не чем иным, как неопределенной коллои-

дальной смесью гема, окисленного кислородом, и глобина, денатурированного щелочью, избыток которой предупреждает тесное химическое соединение обоих компонентов.

Здесь, может быть, следует подчеркнуть, что существует огромная путаница в номенклатуре рассмотренных соединений. В нашем изложении мы придерживались номенклатуры, которая представлялась наиболее рациональной, но читатель должен знать, что некоторые авторы называют «восстановленным гематином» закисный гем, а название «гематин» оставляют за нашим окисным гемом.

Когда гемоглобин обрабатывают концентрированной кислотой, то не только происходит разделение гема и глобина, но гем теряет железо и дает начало пурпурному безжелезистому пигменту г е м а т о п о р ф и р и н у (греч. porfireos—пурпурный). Это легко воспроизвести, добавив несколько капель крови в крепкую серную кислоту,—при этом тотчас получается пурпурный раствор, содержащий гематопорфирин. Пигмент может быть осажден вливанием первоначального раствора в воду. Если полученный осадок собрать и нагреть с разведенным алкоголем, содержащим едкий натр, то этот щелочной раствор гематопорфирина показывает весьма характерный спектр поглощения, состоящий из четырех полос (рис. 14). Гематопорфирин является одним из представителей широко распространенной группы пигментов, объединяемой под общим названием п о р ф и р и н о в, молекула которых состоит из четырех пиррольных колец. Как мы указывали выше, порфирин гемоглобина и его дериватов является п р о т о п о р ф и р и н о м, но не гематопорфирином. Последний является вторичным продуктом, получающимся в результате того, что протопорфирин при своем образовании присоединяет по месту двойной связи его винильных групп $CH=CH_2$ две молекулы воды; этим, впрочем, не изменяется существенно общая структура его молекулы:



Протопорфирин

Эту формулу не так трудно запомнить, если учесть, что порфириновый скелет состоит из четырех пиррольных колец, соединенных в общее кольцо посредством четырех групп CH. Порфирины много изучались за последние годы с чисто химической и биологической

СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ ПИГМЕНТОВ КРОВИ

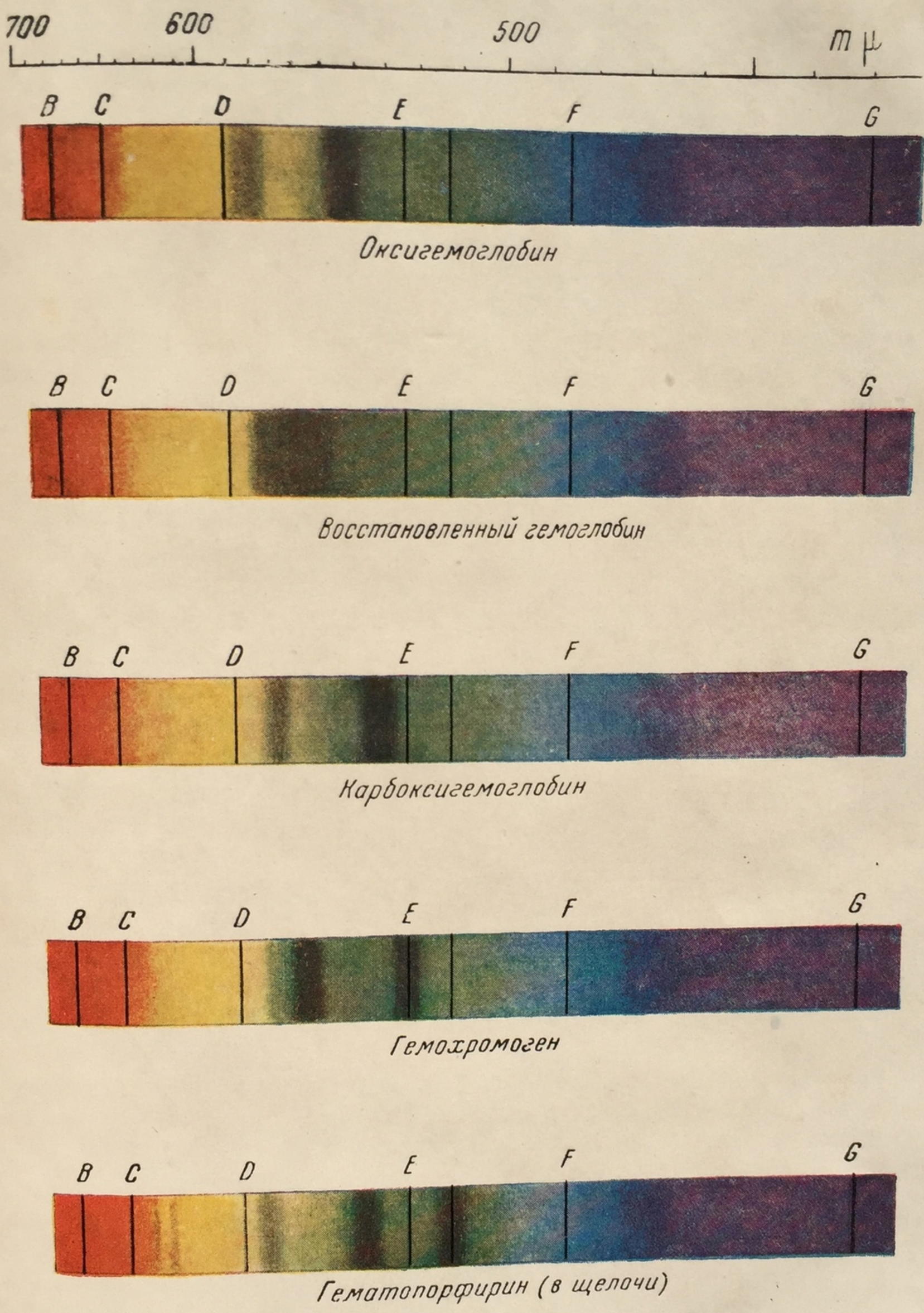
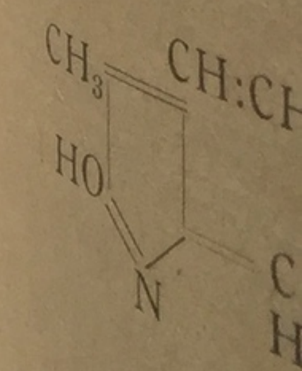


Рис. 14

точек зрения; было
широко распростран
не только гемоглоби
как, например, цитох
являются производны
фил, пигмент. С
ность зеленых рас
однородные химиче
родой для разнооб
ских функций.

Безжелезистые п
зрения физиологии
по структуре и фа
Средняя продолж
шарика равна толь
ходит к концу, крас
клетками, разброса
в совокупности р е т
ну. Эти клетки на
желез, в печени, в
В ретикуло-эндотел
ся из погибших кра
зующийся при этом п
желчи—б и л и р у б
в кровь в качестве е
дывается и затем ис
а билирубин выделя

Билирубин имеет
порфирин или гемат
низме одна из связей
риновой структуры,
OH, так что четыре
цепь вместо сложно

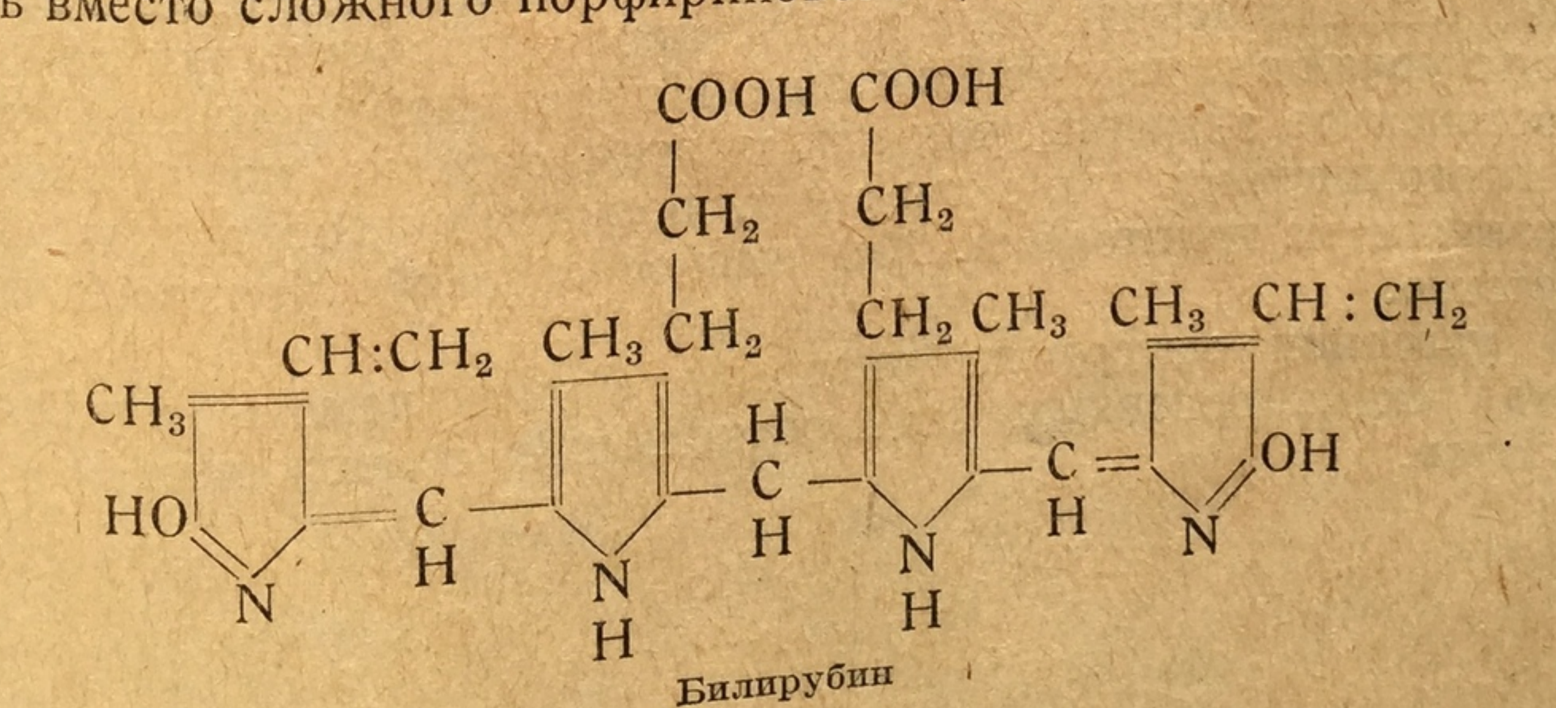


Таким образом, р
чем в пробирке под д
выделения из печени

точек зрения; было установлено, что порфирины и их дериваты широко распространены как составные части живой материи. Не только гемоглобин, но и многие другие животные пигменты, как, например, цитохром и прочие катализаторы окисления клетки, являются производными порфирина. Сюда же относится и хлорофилл, пигмент, обусловливающий фотосинтетическую активность зеленых растений. Повидимому, в процессе эволюции однородные химические структуры были использованы природой для разнообразных и весьма различных физиологических функций.

Безжелезистые порфирины представляют интерес с точки зрения физиологии животных еще и потому, что они родственны по структуре и фактически дают начало пигментам желчи. Средняя продолжительность жизни красного кровяного шарика равна только немногим неделям. Когда этот период подходит к концу, красные кровяные шарики поглощаются особыми клетками, разбросанными по всему организму и образующими в совокупности ретикуло-эндотелиальную систему. Эти клетки находятся в ткани селезенки и лимфатических желез, в печени, в костном мозгу и некоторых других органах. В ретикуло-эндотелиальных клетках гемоглобин, освободившийся из погибших красных кровяных шариков, распадается, а образующийся при этом порфирин превращается в красноватый пигмент желчи—билирубин. Билирубин и свободное железо поступают в кровь в качестве ее нормальных составных частей; железо откладывается и затем используется для новообразования гемоглобина, а билирубин выделяется печенью в составе желчи.

Билирубин имеет на один углеродный атом меньше, чем протопорфирин или гематопорфирин. В процессе его образования в организме одна из связей —CH отщепляется от первоначальной порфириновой структуры, а на месте отщепления остаются две группы OH, так что четыре пиррольных кольца образуют теперь прямую цепь вместо сложного порфиринового цикла:



Билирубин

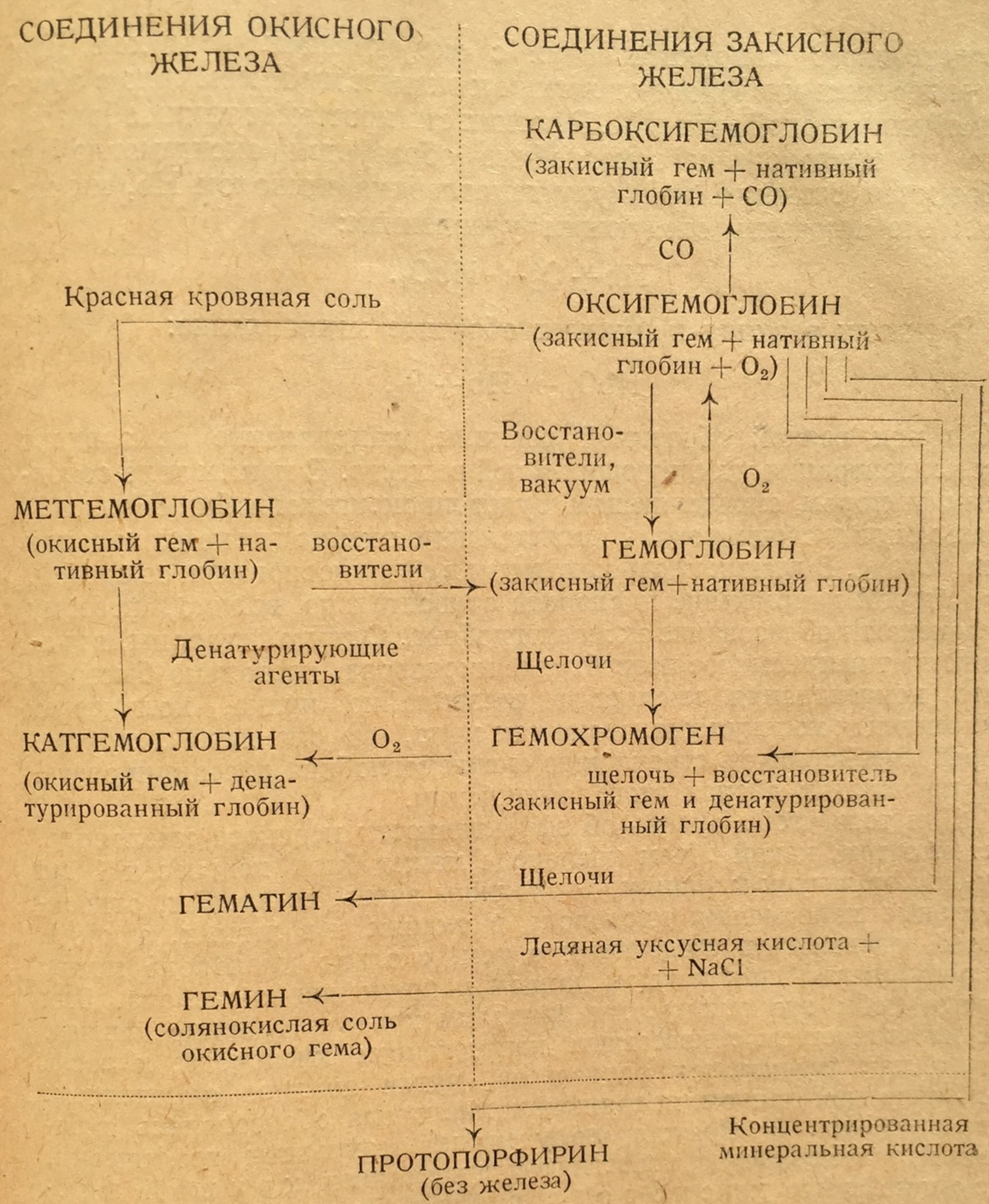
Таким образом, распад гемоглобина в организме идет дальше, чем в пробирке под действием крепкой соляной кислоты. Во время выделения из печени часть билирубина окисляется в зеленый пиг-

мент желчи—биливердин. Биливердин содержит на два водородных атома меньше по сравнению с билирубином. Дальнейшие окрашенные продукты окисления можно получить обработкой этих желчных пигментов крепкой азотной кислотой. Это обстоятельство лежит в основе так называемой гмелиновской реакции на желчь.

Желтуха (состояние, характеризующееся избытком желчных пигментов в организме) может возникать не только как следствие закупорки желчных протоков, но и как результат повышенной активности клеток ретикуло-эндотелиальной системы. Возможно поэтому ненормальное нарастание количества желчных пигментов без соответствующего увеличения количества желчнокислых солей (к обмену которых ретикуло-эндотелиальные клетки не имеют отношения). В этом случае желчные пигменты адсорбируются белками плазмы и в таком связанном состоянии не дают характерной реакции на желчные пигменты—окраски с диазотированной сульфаниловой кислотой (реактив ванденБерга); эта реакция получается в этом случае лишь после того, как мы освободим пигменты, осадив белки спиртом. С другой стороны, желчные пигменты, накопляющиеся в крови в результате закупорки желчных протоков печени, обязательно сопровождаются желчными солями, которые предупреждают адсорбцию желчных пигментов белками; пигменты остаются свободными и дают пурпурное окрашивание с реактивом ванденБерга без предварительной обработки плазмы алкоголем. Посредством этой химической реакции, проделанной с сывороткой крови, возможно, таким образом, отличить желтуху, возникшую на почве закупорки желчных протоков, от гемолитической желтухи.

Когда желчные пигменты выделяются в пищеварительный канал, они подвергаются действию бактерий, которыми изобилует кишечный тракт. Происходит их восстановление, отщепляется один атом азота и получается новый коричневый пигмент кала, стеркобилин (лат. stercus—навоз). Некоторая часть стеркобилина снова всасывается в кровь, переносится в почки и выделяется с мочой в виде уробилина. Но этот пигмент имеет в моче второстепенное значение, так как желтая окраска мочи зависит от желтого пигмента урохрома, повидимому, образующегося в организме из триптофана. Химическое строение урохрома еще неизвестно.

В усвоении материала читателю может помочь нижеследующая схема основных взаимоотношений гемоглобина и его дериватов.



ГЛАВА XVII

ДЫХАТЕЛЬНЫЙ ГАЗООБМЕН

С точки зрения значения гемоглобина для всего организма в целом, наиболее важным свойством его является способность гемоглобина соединяться в легких с кислородом, образуя оксигемоглобин, и затем снова освобождать кислород, после того как оксигемоглобин принесен с кровью к тканям, где идет потребление этого газа. Таким образом, гемоглобин обеспечивает доставку кислорода тем внутренним органам, которые лишены непо-

средственного соприкосновения с окружающим воздухом. При этом переносе кислорода от легких к тканям мы имеем дело с обратимой химической реакцией. В легких она протекает таким образом, что из кислорода и гемоглобина образуется оксигемоглобин; обозначая сложную молекулу гемоглобина символом Hb, мы можем это выразить следующим уравнением:

$$Hb + O_2 \rightarrow HbO_2.$$

В тканях реакция принимает обратное направление:

$$HbO_2 \rightarrow Hb + O_2.$$

Как при всякой обратимой реакции, направление ее зависит от концентрации участвующих в ней веществ. В нашем теле основным фактором, определяющим, будет ли оксигемоглобин образовываться или диссоциировать, является напряжение или концентрация кислорода. В легких кровь находится в соприкосновении со средой, в которой напряжение кислорода относительно велико, поэтому происходит образование оксигемоглобина. С другой стороны, в тканях идет непрерывное потребление кислорода, настолько быстрое, что концентрация кислорода чрезвычайно низка, количество имеющихся молекул кислорода так мало, что оно не в состоянии противодействовать стремлению оксигемоглобина диссоциировать, и происходит распад этого соединения.

Для того чтобы судить об эффективности переноса кислорода, т. е. о том, какой объем кислорода может быть перенесен 1 мл крови от легких к тканям, мы должны знать, во-первых, относительные напряжения кислорода в тканях и в легких, а кроме того, располагать сведениями о том, сколько кислорода может кровь связать при каждом данном напряжении кислорода. Для того чтобы это узнать, мы приводим кровь в соприкосновение с пространством с известным напряжением кислорода, и после того как установится равновесие, путем анализа определяем, сколько при данном напряжении кислорода образовалось оксигемоглобина. Изображая полученные результаты графически, мы получаем кривую, известную под названием к р и в о й д и с с о ц и а ц и и к и с л о р о д а в крови. По этой кривой мы для любого напряжения кислорода сразу можем вычислить содержание его в определенном объеме крови и, следовательно, узнать какое количество его будет отдано при переходе крови из места с более высоким напряжением к месту с более низким напряжением кислорода. Обычный атмосферный воздух содержит около $^1/_5$ по объему кислорода. Напряжение, или парциальное давление, кислорода будет около $^1/_5$ атмосферного или $\frac{760}{5}$ мм ртутного столба, т. е. около 152 мм Hg. Вследствие того, что в легких идет непрерывное потребление кислорода, содержание его в альвеолярном воздухе несколько ниже, чем во вдыхаемом воздухе, так что парциальное давление его составляет примерно 100 мм Hg. Совершенно очевидно, что это будет наиболее высоким парциальным давлением кисло-

рода, с каким кровь может встретиться в теле, и от этой величины мы и можем начать нашу кривую диссоциации, поскольку нас интересуют условия при вдыхании обычного воздуха. Все прочие величины парциального давления, которые нам могут встретиться, будут ниже этой исходной величины; мы легко можем получить эти давления, соответствующим образом разбавляя атмосферный воздух азотом, понижая этим путем относительное содержание, а следовательно, и парциальное давление кислорода. Допустим, что мы приготовили ряд таких смесей, содержащих от очень малых количеств кислорода до таких, которые соответствуют напряжению его в 100 мм Hg. После этого мы подвергаем небольшие количества крови действию этих газовых смесей и приводим их, взбалтывая в соответствующем сосуде, в соприкосновение; если желают работать при температуре тела, то сосуд погружают в воду, нагретую до 37°. После того как будет достигнуто состояние равновесия, мы берем точно отмеренное количество крови из этого сосуда и измеряем, какое количество кислорода в ней содержится в виде оксигемоглобина. Это определение можно произвести, или подвергая кровь действию вакуума, или же обрабатывая ее раствором железосинеродистого калия. Результаты, полученные в ряде такого рода опытов, мы наносим на диаграмму, откладывая значения напряжения кислорода по горизонтали, а общее количество кислорода, содержащееся в 100 мл крови,—по вертикали. Мы получаем при этом кривые, подобные тем, которые представлены на рис. 15.

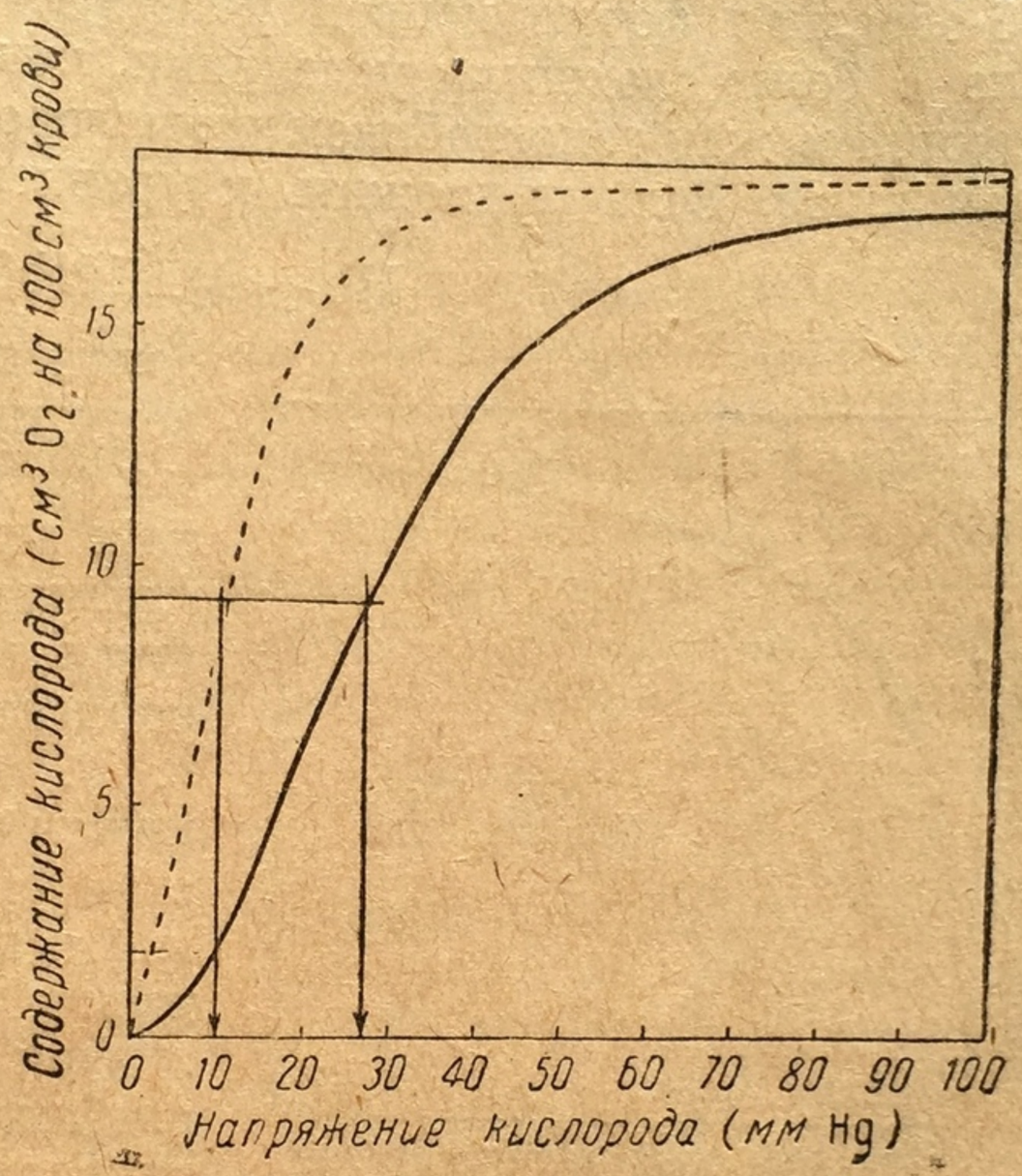


Рис. 15. Кривая диссоциации кислорода в крови. (По данным Баркрофта.)

Пунктирная кривая—кровь при температуре тела и нулевом напряжении CO_2. Сплошная кривая—кровь при температуре тела и 40 мм напряжения CO_2

Оставляя пока в стороне различия в приведенных на рисунке двух кривых, мы обратим наше внимание на то, что обе они обладают сложной, S-образной формой: количество кислорода, воспринимаемое кровью, сначала возрастает медленно, а затем с повышением напряжения кислорода—более быстро и, наконец, постепенно замедляясь, достигает максимума, соответствующего приблизительно 18,5 мл газа на 100 мл крови при наиболее высоком

из исследованных парциальных давлений кислорода. Разумеется, из этого количества некоторая, весьма малая доля находится в состоянии физического растворения в крови, так же как это имело бы место в чистой воде; но эта доля составляет всего около 0,3 мл при 100 мм Hg. Поэтому мы вправе сказать, что практически весь кислород переносится кровью в виде оксигемоглобина.

S-образная форма кривой указывает на то, что мы имеем тут дело с более сложными условиями, чем при простой обратимой реакции между гемоглобином и кислородом, как мы это представили выше. Если приложить к уравнению

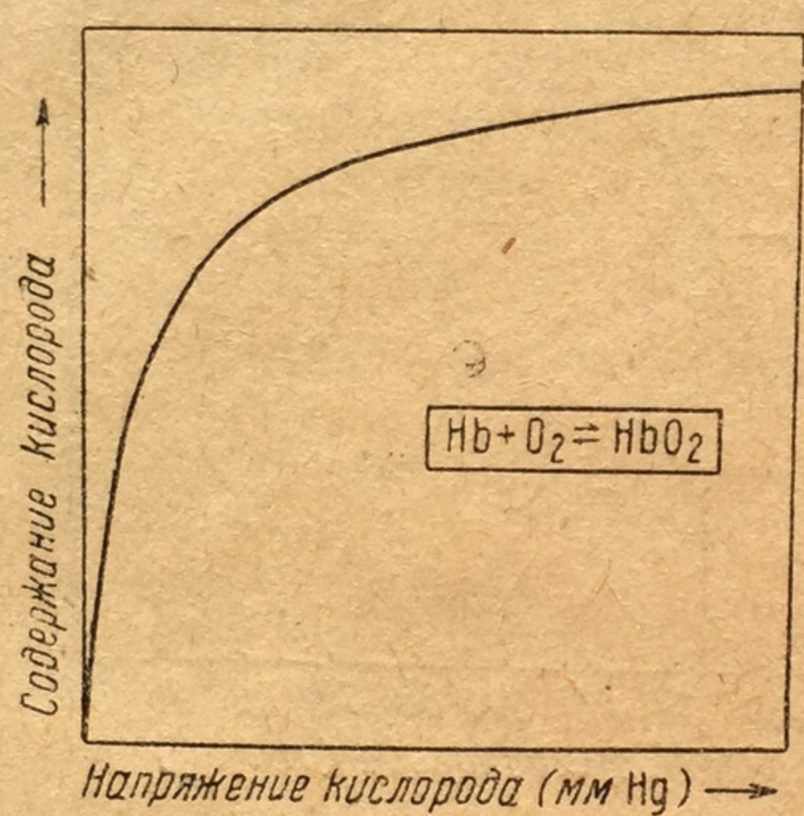


Рис. 16. Теоретическая гиперболическая кривая диссоциации, вычисленная для равновесия $HbO_2 \rightleftarrows Hb + O_2$

$$Hb + O_2 \rightleftarrows HbO_2$$

закон действующих масс, т. е. допустить, что произведение концентрации реагирующих веществ, кислорода и гемоглобина, при каждом состоянии равновесия пропорционально концентрации продукта реакции, т. е. оксигемоглобина, то мы можем вычислить, какие количества его мы должны были бы найти при любом данном напряжении кислорода и при определенной концентрации оксигемоглобина). Читатель может попробовать сделать это сам. Он легко убедится при этом, что кривая диссоциации, вычисленная таким образом, не будет иметь той S-образной формы, которая получается на деле в опытах с кровью; форма ее значительно проще, она равномерно с самого начала возрастает, вплоть до достижения максимума. Эта кривая представляет собой то, что математики называют прямоугольной гиперболой (рис. 16). Именно такого рода кривые, действительно, в свое время и были получены в опытах, когда употреблялись разведенные диализированные растворы гемоглобина; S-образную форму кривой диссоциации крови приписывали тому, что неорганические соли, содержащиеся в красных кровяных шариках, оказывали какое-то влияние на химические свойства гемоглобина. Однако в новейших исследованиях, при которых принимались меры предосторожности, исключавшие возможность бактериального или иных каких-либо воздействий на гемоглобин, были и при разведенных растворах его получены S-образные кривые. В настоящее время все сходятся в том, что и в более крепких растворах гемоглобина, при усовершенствовании методики его кристаллизации, которые теперь возможно получать, тоже получаются кривые той же характерной формы.

Мы должны заключить из этого, что способность давать S-об-

разную кривую присуща самому гемоглобину, а не обусловлена действием на него солей, находящихся одновременно в растворе. Но тогда возникает вопрос: каким образом получается у гемоглобина эта S-образная кривая?

Первый ответ на этот вопрос дали недавние, чрезвычайно точные измерения осмотического давления растворов гемоглобина, а также измерения скорости осаждения гемоглобина из раствора под действием огромных сил, возникающих в ультрацентрифуге (об этом мы еще будем говорить ниже). Эти независимые друг от друг исследования показали, что гемоглобин находится в растворе не в виде отдельных молекул Hb, а в виде комплексов Hb_4,— другими словами, первичная единица гемоглобина, соединяющаяся с кислородом, содержит не один, а четыре атома железа, вместе, разумеется, с четырьмя порфириновыми комплексами и четырьмя частицами глобина. Уже давно с несомненностью установлено, что гемоглобин реагирует с кислородом таким образом, что на каждый атом железа приходится одна молекула кислорода. В таком случае комплекс Hb_4 должен соединяться с четырьмя молекулами кислорода:

$$Hb_4 + 4O_2 = Hb_4O_8.$$

Но если приложить к этому уравнению закон действия масс, то благодаря тому, что реагируют четыре молекулы, кислорода, его концентрация войдет в расчеты в четвертой степени, и вычисленная кривая диссоциации для такого равновесия будет иметь еще гораздо более резко выраженный S-образный характер, чем все фактически находимые в опытах кривые. Поэтому в настоящее время предполагают, что когда гемоглобин реагирует с кислородом, то это происходит в четыре независимых, но одновременных ступени:

$$Hb_4 + O_2 = Hb_4O_2,$$
$$Hb_4 + 2O_2 = Hb_4O_4,$$
$$Hb_4 + 3O_2 = Hb_4O_6,$$
$$Hb_4 + 4O_2 = Hb_4O_8.$$

Первое из этих уравнений представляет реакцию, где молекула приходится на молекулу и кривая диссоциации имеет чистую форму гиперболы; для второго случая мы имеем слегка изогнутую S-образную кривую, в третьем случае эта форма еще более выражена, а для четвертого уравнения она уже значительно превышает, как мы уже отмечали, фактически наблюдаемое отклонение от формы гиперболы. Промежуточный характер S-образной кривой, находимой непосредственно в эксперименте, объясняется тем, что эта экспериментальная кривая является результатом наложения всех четырех указанных отдельных кривых.

Если, таким образом, влияние неорганических солей на связывание кислорода гемоглобином в настоящее время приходится признать менее значительным, чем предполагалось раньше, то, с другой стороны, несомненно, что очень существенное влия-

ние на этот процесс оказывает степень кислотности или щелочности той среды, в которой находится гемоглобин. Сравнивая, например, две кривые рис. 15, можно видеть, что в присутствии углекислоты гемоглобин при том же парциальном давлении кислорода связывает его меньше, чем в отсутствии этой кислоты. То, что в этом случае относится к угольной кислоте, оказывается справедливым для всех кислот вообще и определяется степенью обусловливаемой ими кислотности. Положение равновесия, достигаемого в системе гемоглобин+кислород, зависит от относительных скоростей прямой и обратной реакций—соединения кислорода с гемоглобином и диссоциации образовавшегося оксигемоглобина на его компоненты. Если кислоты смещают это положение равновесия, то очевидно, что они должны влиять на скорость одной из указанных реакций, меняя величину отношения этих скоростей. Мы касались аналогичного случая в главе XIII, когда речь шла о гидролизе сложных эфиров. Разница между этими двумя случаями прежде всего в том, что в то время как равновесие в системе со сложным эфиром требует для своего достижения дней и даже недель, скорости прямой и обратной реакции в системе с гемоглобином неизмеримо выше, и равновесие достигается на протяжении сотых долей секунды. Впрочем, говорить о «неизмеримости» этих скоростей не совсем правильно. Для определения их величин прибегли к остроумному экспериментальному приему.

Растворы гемоглобина и кислорода (или—для измерения обратной реакции—оксигемоглобина и гидросульфита натрия) впрыскиваются под давлением в специальную смесительную камеру, откуда смесь выходит по длинной отводной трубке. Обе жидкости вводятся с такой быстротой, что реакция заканчивается только в этой отводной трубке, где за ходом процесса можно наблюдать спектроскопически. Наблюдая за окраской в разных участках этой трубки, можно определить, как далеко прошла реакция, а зная скорость тока жидкости,—вычислить и самую скорость реакции.

При помощи этого очень тонкого и изящного метода удалось установить, что влияние кислот на равновесие между кислородом и гемоглобином целиком обусловлено ускорением распада оксигемоглобина; на скорость же соединения гемоглобина с кислородом кислоты совершенно не влияют. То же самое касается повышения температуры: при этом ослабляется связь между гемоглобином и кислордом опять-таки вследствие увеличения скорости распада оксигемоглобина.

Указанное влияние температуры и кислотности на скорость диссоциации оксигемоглобина имеет чрезвычайно важное значение для организма. Вся сущность функции гемоглобина заключается в обратимости его реакции с кислородом. Гемоглобин не только соединяется с кислородом в легких, но и отдает этот кислород в тканях. Мы знаем, что множество веществ легко соединяется с кислородом—взять хотя бы просто металлическое железо. Но, чтобы выделить кислород из такого соединения, требуются усло-

вия доменной печи. Когда же железо находится в связанном состоянии в молекуле гемоглобина, то оно удерживает кислород лишь с той силой, которая позволяет осуществить транспорт его от легких и свободно отдавать его в тканях. Этой отдаче кислорода железом гемоглобина способствует, с одной стороны, более высокая температура во внутренних частях тела, а с другой— угольная и иные кислоты, которые поступают в кровь из тканей. О том, как велико это влияние кислотности, можно видеть из сравнения двух кривых на рис. 15. Мы видим из них, что при относительно высоком напряжении кислорода, которое кровь встречает в легких, практически весь гемоглобин насыщен кислородом независимо от того, присутствует ли угольная кислота или нет; другими словами, углекислота заметно не влияет на количество кислорода, связываемое гемоглобином в легких. Когда теперь кровь проходит по капиллярам тела, то ткани потребляют кислород, и напряжение его, естественно, падает. К тому моменту, когда кровь отдаст половину содержавшегося в ней кислорода (это отмечено горизонтальной линией), напряжение кислорода в пробе, где углекислота отсутствует, упадет до 10 мм Hg, тогда как в присутствии углекислоты оно будет составлять около 26 мм Hg. Другими словами, углекислота стремится поддерживать на более высоком уровне напряжение кислорода, еще имеющегося в крови, а это напряжение и является той движущей силой, за счет которой осуществляется диффузия кислорода через стенки капилляров. Отсюда ясно, что кислота изменяет свойства гемоглобина в направлении еще большего повышения его эффективности в качестве переносчика кислорода и обеспечения этим доставки к тканям таких количеств этого газа, которые полностью покрывают потребности энергично функционирующего организма теплокровного животного.

Прежде чем кончить рассмотрение вопроса о переносе кислорода, следует еще указать, что, приводя кривые диссоциации кислорода, мы выражали общее количество кислорода, содержащегося в крови в миллилитрах газа на 100 мл крови. Этот способ выражения имеет то преимущество, что он более нагляден и прост; однако часто приходится встречаться с кривыми диссоциации, в которых количество имеющегося кислорода выражается в процентах от того максимального количества, которое может быть связано при высоком парциальном давлении. Это так называемое процентное насыщение крови кислородом. К этому способу выражения прибегают потому, что легче определить относительную степень насыщения гемоглобина кислородом, чем измерить общее количество фактически имеющегося кислорода. Особых затруднений переход от одного способа выражения к другому не представляет, так как известно, что в нормальной крови насыщение в 100% соответствует фактическому содержанию кислорода в 18,5 мл на 100 мл крови.

Исследование переноса углекислоты кровью идет по тому же пути, как и изучение переноса кислорода. Пользуясь методами,

аналогичными тем, которые мы описали для кислорода, можно получить кривую диссоциации углекислоты в крови. Для этого кровь приводят в соприкосновение с газовой смесью с различными напряжениями угольной кислоты, а затем во взятой пробе определяют количество углекислоты, извлекая ее посредством вакуума или вытесняя действием сильной кислоты. Если вспомнить, как сильно влияет углекислота на кривую диссоциации кислорода, то нас не удивит, что и кислород в свою очередь оказывает заметное влияние на кривую диссоциации угольной кислоты. Действительно, оказывается, что характер кривой диссоциации углекислоты в данной пробе крови меняется в зависимости от того,

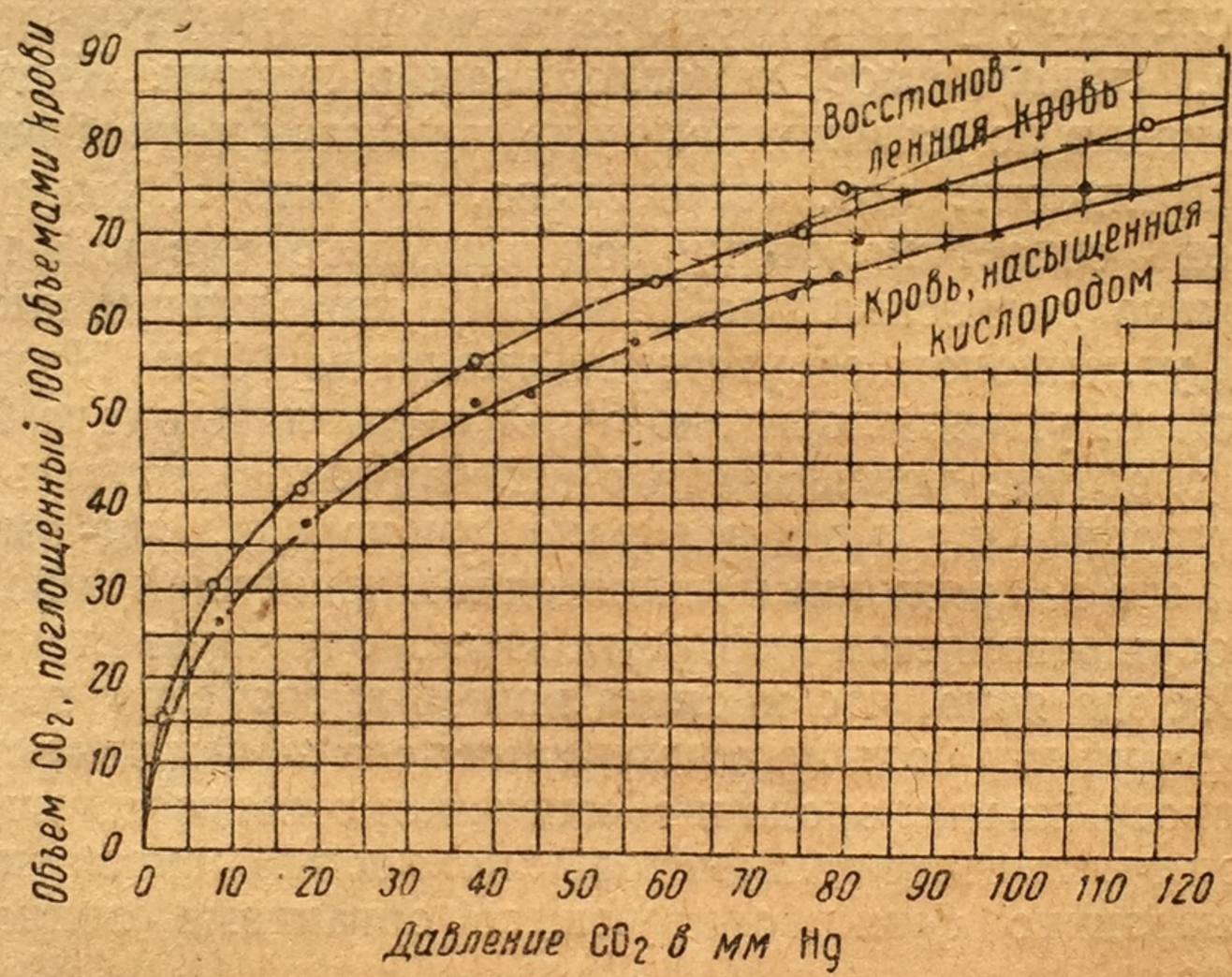


Рис. 17. Кривая диссоциации углекислоты в насыщенной кислородом и в редуцированной крови. Следует обратить внимание на то, что редуцированная кровь при всех напряжениях углекислоты поглощает больше этого газа, нежели кровь, насыщенная кислородом.

содержит ли кровь кислород или нет. Если кровь свободна от кислорода, то она при данном напряжении углекислоты связывает заметно больше этого газа, чем кровь, полностью насыщенная кислородом. Таким образом, могут быть получены две кривые диссоциации углекислоты: одна для полностью восстановленной, лишенной кислорода крови и другая для крови, насыщенной кислородом. Вторая на всем своем протяжении лежит ниже, чем первая. Такие две кривые представлены на рис. 17. В этом влиянии кислорода на способность крови переносить углекислоту мы должны усматривать ценное приспособление, обеспечивающее возможность переноса этого газа от тканей к легким с большей быстротой и полнотой, чем это иначе было бы возможно. Чем беднее кислородом становится кровь в тканях, тем более возрастает ее способность связывать угольную кислоту. С другой стороны, поступление

кислорода в кровь в легких способствует вытеснению угольного ангидрида, так как насыщенная кислородом кровь способна при том же напряжении угольного ангидрида удерживать меньше этого газа в связанном состоянии. Мы уже упоминали, что напряжение углекислоты в артериальной крови соответствует примерно 40 мм Hg. Это наименьшая величина напряжения угольной кислоты, с какой мы встречаемся в теле. Из приводимых на рис. 17 кривых диссоциации мы видим, что при этом напряжении кровь, насыщенная кислородом, содержит на каждые 100 мл свыше 50 мл угольного ангидрида, так что даже артериальная кровь, наиболее бедная углекислотой, при подкислении выделяет половину своего объема углекислоты. Небольшая часть этого газа будет находиться в состоянии простого физического растворения. Но, несмотря на то, что углекислота сравнительно легко растворима в воде, все же эта доля при тех напряжениях, с которыми нам тут приходится иметь дело, составляет лишь очень малую величину. Из этого следует, что газ находится в состоянии химического соединения с какими-то составными частями крови, подобно тому, что мы видели для кислорода. Было немало споров по поводу того, в какой именно форме связывается углекислота в крови; несомненно, что по крайней мере весьма значительная часть из общего количества связанной углекислоты находится в виде бикарбонатов. Этим вопросом мы еще займемся детально в последней главе. Здесь мы ограничимся указанием на то, что натрий, необходимый для образования бикарбоната, доставляется, повидимому, главным образом гемоглобином, который, являясь слабой кислотой, находится в крови преимущественно в виде натриевой соли. Под действием углекислоты этот натрий отнимается от гемоглобина и образует бикарбонат. В легких угольная кислота выделяется, и снова образуется натриевая соль гемоглобина. Причина, почему насыщенная кислородом кровь связывает несколько меньше углекислоты, чем кровь, свободная от кислорода, заключается в том, что оксигемоглобин является кислотой, несколько более сильной, чем восстановленный гемоглобин, поэтому прочнее удерживает натрий и труднее уступает его для образования бикарбоната. Но в обоих случаях часть образовавшегося в кровяных тельцах бикарбоната в виде ионов выходит из телец в плазму, поэтому связанный угольный ангидрид в крови сосредоточен не только внутри красных кровяных шариков, как кислород, а содержится в значительном количестве и в плазме.

ГЛАВА XVIII

НЕКОТОРЫЕ ПРИЛОЖЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ: ДАВЛЕНИЕ ГАЗОВ; ОСМОТИЧЕСКОЕ ДАВЛЕНИЕ

«Я убежден, что биологическая химия не может развиться в подлинную науку, не использовав точные методы, выработанные физической химией».

Аррениус

Давление газов

Рассматривая перенос кислорода и угольной кислоты в крови, мы неоднократно говорили о давлении того или иного из компонентов газовой смеси или о давлении газа в жидкости, но тогда мы не могли отклоняться от непосредственного предмета изложения для разъяснения и определения этих понятий. Напряжение или парциальное давление газа—это то его свойство, которое определяет, будет ли газ диффундировать в пространство, к которому он имеет доступ, или, наоборот, вырываться из этого пространства. Если напряжение газа в одном определенном месте высоко, то он будет стремиться перейти путем диффузии в те участки, где его напряжение ниже, и, наоборот, участок с низким парциальным давлением будет являться местом, куда газ стремится поступить из мест с более высоким давлением. Таким образом, давление газа представляет фактор, аналогичный температуре, так как именно относительная температура тел определяет направление, в котором совершается перемещение тепла между телами.

Согласно современной кинетической теории газов, это проявляемое газом стремление к диффузии является выражением энергии непрерывно совершающегося движения его молекул, и давление, оказываемое газом, является суммой всех ничтожно малых давлений, оказываемых каждой отдельной молекулой, когда она при своем движении ударяется в стенки того пространства, в котором газ заключен. Если мы в определенном пространстве имеем смесь газов, то давление каждого из компонентов этой смеси определяется частотой ударов молекул именно данного газа о стенки пространства, заключающего наши газы. Совершенно ясно, что частота ударов для каждого вида молекул определяется числом данных молекул в единице объема, например, в 1 мл газовой смеси, и число ударов может быть изменено двумя путями: или изменением состава смеси при сохранении общего давления постоянным, или же путем изменения общего давления, например, вводя в меньший объем большее число молекул того газа, который нас интересует, одновременно, конечно, повышая и число молекул всех прочих газов. Отсюда следует, что давление, вызываемое каждым отдельным газом в смеси газов, определяется, во-первых, относительным содержанием данного газа и смеси, а, во-вторых, общим давлением всей смеси. Можно сформулировать это таким

образом: если содержание данного газа смеси составляет x объемных процентов, а общее давление смеси равно p, то давление нашего газа будет составлять x процентов от величины p. Притом это давление будет оставаться неизменным, сколько бы молекул других газов ни находилось одновременно в смеси. Это объясняется тем, что пространства между газовыми молекулами так велики, что молекулы одного газа могут беспрепятственно двигаться между молекулами второго, по крайней мере в пределах умеренных величин давлений.

Эти же соображения остаются в силе и в том случае, если одним из компонентов газовой смеси являются пары какой-либо жидкости; давление, приходящееся на долю пара, определяется его относительным содержанием в смеси. Но давление, вызываемое паром, перестает быть переменной величиной в том случае, если, наряду с паром, имеется и некоторое количество самой жидкости, т. е. если, как принято говорить, мы имеем насыщенное парами пространство; при этих условиях давление паров приобретает постоянное значение, определяемое исключительно температурой. Если мы попытаемся повысить давление паров, например, сжимая газовую смесь, то избыток паров сгущается, и количество жидкости возрастает; с другой стороны, если мы понизим давление паров ниже состояния насыщения, то часть имеющейся жидкости начнет превращаться в пар, пока снова не будет достигнуто состояние насыщения. Вследствие этого давление паров остается постоянным до тех пор, пока имеется налицо некоторое количество жидкости. Это обстоятельство важно в тех случаях, когда приходится иметь дело с газами, насыщенными парами воды, каковы, например, газы, выдыхаемые из легких, или газы, находящиеся в соприкосновении с кровью или иными водными жидкостями при тех или иных опытах. Здесь необходимо учитывать давление водяных паров, соответствующее данной температуре, и лишь оставшаяся за вычетом этого давления величина соответствует собственно газовому давлению; в пределах этой величины парциальное давление, приходящееся на долю каждого отдельного компонента смеси, будет определяться его процентным содержанием в смеси.

Поясним это числовым примером. Допустим, что из общего объема, занимаемого кислородом, азотом и углекислотой в пробе альвеолярного воздуха, на долю углекислоты приходится 6%. Пусть, далее, атмосферное давление равно 760 мм Hg. Исследуемый воздух в легких был насыщен водяными парами при температуре тела, т. е. при 37°, поскольку он находился в непосредственном соприкосновении с влажной легочной тканью. Известно, что при указанной температуре давление, оказываемое насыщенным водяным паром, равно 47 мм Hg. Следовательно, остающееся давление, приходящееся на долю кислорода, азота и углекислоты, составляет 760—47 =713 мм Hg. Поскольку углекислота в этой газовой смеси составляет 6%, то давление, вызываемое ею, будет составлять 6% от 713, или приблизительно 42,8 мм Hg.

Если требуется определить давление газа, растворенного в жидкости, то остаются в силе те же соображения, которые были развиты в отношении простой газообразной смеси. Давление газа является здесь результатом того давления, которое оказывают молекулы его, ударяющиеся о поверхность жидкости. Для того чтобы получить представление о количественных соотношениях, рассмотрим, что происходит, когда жидкость, содержащая растворенный в ней газ, приходит в соприкосновение с пространством, которое тоже содержит этот газ. Если давления газа в жидкости и в пространстве таковы, что за определенный промежуток времени больше молекул газа ударяется снизу о поверхность жидкости и переходит в пространство, чем из пространства ударяется о жидкость и переходит в нее, то газ будет происходить перейти из жидкости в свободное пространство, и жидкость отдает часть своего газа. Наоборот, если давления в обеих фазах таковы, что за единицу времени больше молекул ударяется о поверхность жидкости сверху, чем снизу, то будет преобладать стремление газа проникать из пространства в жидкость, и последняя будет обогащаться газом. Но при некотором определенном содержании газа в жидкости число молекул его, проходящих за данный промежуток времени через поверхность жидкости в том и другом направлении, может оказаться одинаковым, так что не будет происходить никакого изменения распределения газа между жидкостью и газовым пространством. Когда такое состояние равновесия достигнуто, то говорят, что давление газа в жидкости равно давлению его в пространстве. Следовательно, давление или напряжение газа в жидкости равно тому давлению его в газовом пространстве, которое имеется в состоянии равновесия. При физиологических исследованиях измерения напряжения газов в биологических жидкостях имеют весьма большое значение; так, например, для суждения о функциях легочной мембраны совершенно необходимо иметь точное представление о напряжении газов в артериальной крови. Если бы оказалось, например, что при тех или иных условиях напряжение кислорода в артериальной крови, оттекающей от легких, выше, чем в альвеолярном воздухе, то это свидетельствовало бы о том, что кислород, поступивший в кровь, не мог проникнуть туда путем чисто физической диффузии; необходимо было бы допустить наличие какого-то активного процесса, преодолевающего разность давлений кислорода; энергия для этого должна была бы доставляться клетками легочной мембраны. Мы не будем здесь задерживаться на рассмотрении этого специального вопроса и ограничимся тем, что упомянем о принципах тех методов, посредством которых могут быть произведены соответствующие измерения. Они вытекают из сказанного выше. Жидкость взбалтывают, или иным каким-либо путем приводят в достаточно тесное соприкосновение с небольшим пузырьком газа, обычно воздуха, до тех пор, пока не установится равновесие между газами пузырька и газами жидкости. После этого остается лишь проанализировать состав газового пузырька и на

основании результатов анализа вычислить парциальное давление отдельных газов; оно будет равняться тому, которое эти газы имели в испытуемой жидкости.

Осмотическое давление

Мы имеем в настоящее время много оснований полагать, что существуют известные силы притяжения между молекулами растворенного вещества и молекулами растворителя; эти силы мы должны преодолеть, если захотим отделить некоторое количество чистого растворителя от раствора, так как при этом нам придется отделить молекулы растворителя от молекул растворенного вещества, остающихся в более высокой концентрации в остальной части раствора. Допустим, например, что мы имеем раствор соли в воде и желаем отделить часть воды путем свободного испарения. Мы обнаружим, что давление паров раствора при всякой данной температуре оказывается заметно более низким, чем у чистой воды при тех же условиях; разница соответствует той энергии, с которой молекулы соли притягивают или удерживают молекулы воды. Далее, если мы захотим отделить воду путем кипячения раствора, то мы увидим, что вследствие более низкого напряжения паров раствора придется нагреть его до более высокой температуры, чем чистую воду, для того чтобы это давление достигло величины атмосферного и жидкость начала кипеть. Это повышение точки кипения служит, следовательно, другим способом для измерения величины работы, затрачиваемой на отделение воды от растворенного вещества. Наконец, если мы охлаждаем раствор, то выделяется лед. Это тоже является способом для отделения чистого растворителя от растворенных веществ, и снова мы видим, что получить лед из раствора труднее, чем из чистой воды: для этого раствор приходится охладить ниже 0°, и лишь после этого начнет образовываться лед. Мы имеем, следовательно, понижение точки замерзания раствора по сравнению с температурой замерзания чистого растворителя. Это понижение, называемое депрессией, является еще одной мерой, позволяющей судить о работе, необходимой для отделения молекул соли от молекул воды.

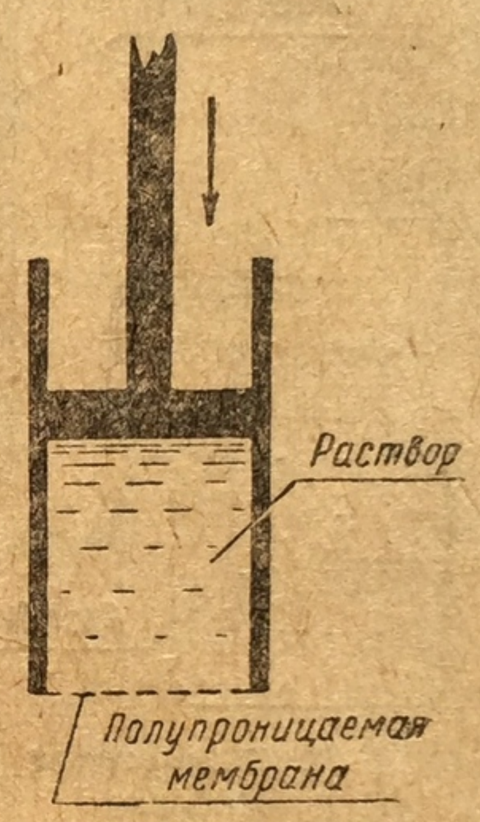


Рис. 18.

Наконец, мы можем, по крайней мере теоретически, отделить воду от растворенного в ней вещества при помощи давления при условии, что мы располагаем мембраной, играющей некоторым образом роль сита, которое будет пропускать молекулы воды и задерживать растворенное вещество. В таком случае мы могли бы, прилагая давление, заставить воду пройти через такую мембрану, оставляя позади раствор с возросшей концентрацией. Можно представить себе приспособление, подобное изображенному на рис. 18,

где дно цилиндра представляет собой полупроницаемую мембрану, через которую жидкость можно заставить проникать, прилагая давление на поршень. При таком фильтровании под давлением мы должны совершить известную работу для отделения чистого растворителя от растворенного вещества, совершенно аналогично тому, что мы имели при испарении или вымораживании. В данном случае это проявится в том, что для выделения некоторого количества воды из раствора придется приложить большее давление, чем в том случае, если бы цилиндр был просто наполнен чистой водой. Это избыточное давление носит название осмотического давления. Изучение этого осмотического давления является важной задачей для физиолога, ибо оказывается, что большинство процессов секреции сводится к тому, что из крови через посредство мембран или клеток отделяется раствор, оказывающийся, по крайней мере в отношении тех или иных отдельных компонентов, то более, то менее концентрированным, чем сама кровь, находящаяся по другую сторону мембраны.

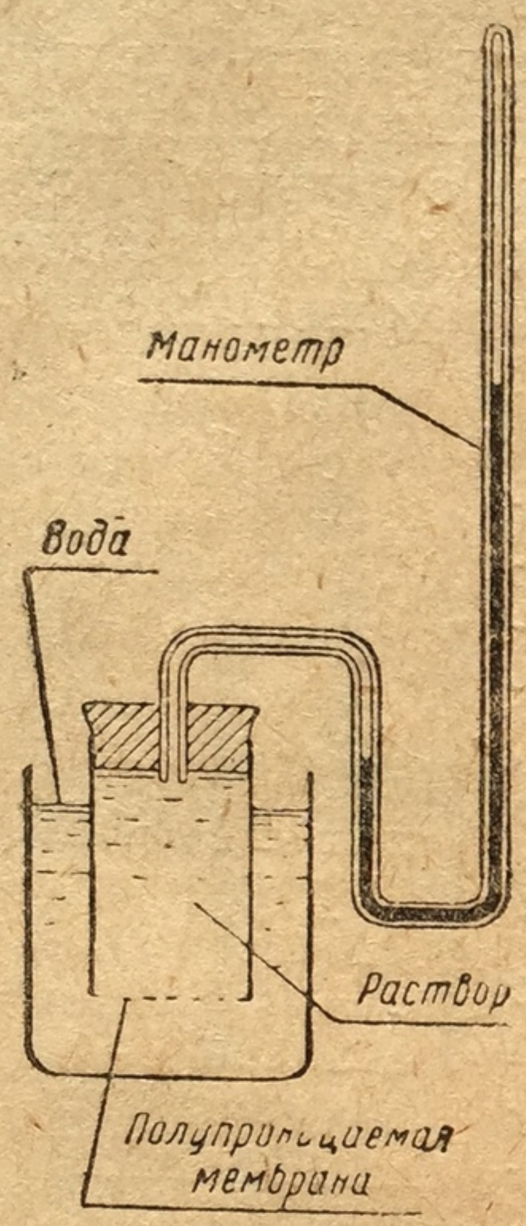


Рис. 19. Прибор для непосредственного измерения осмотического давления.

Существование осмотического давления обнаруживается еще и иным путем. Допустим, что мы имеем, как и в предыдущем случае, цилиндр, закрытый с одного конца полупроницаемой перегородкой. Удалим, однако, поршень и вместо этого закроем верхний конец цилиндра крышкой, несущей на себе манометр. Наполним цилиндр солевым раствором и погрузим прибор в чистую воду, как представлено на рис. 19. При этих условиях вода будет диффундировать через перегородку, которую мы представляем себе легко проницаемой для молекул воды. Одни молекулы будут диффундировать в цилиндр снаружи, другие будут стремиться проникнуть из него в окружающую его снаружи воду. Если бы мы с обеих сторон имели чистую воду, то одинаковое число молекул диффундировало бы изнутри наружу и в обратном направлении, и мы имели бы состояние равновесия: манометр не показывал бы никакого давления. Но если внутри цилиндра находится раствор, то молекулы воды здесь будут находиться в менее благоприятных условиях, ибо их будут притягивать обратно в цилиндр молекулы растворенного вещества, которые сами не способны пройти через мембрану. В результате больше молекул воды проникнет внутрь цилиндра, чем за тот же промежуток времени выйдет из него наружу. Следовательно, количество воды внутри цилиндра увеличится, и это вызовет повышение давления. Но это повышение давления в свою очередь будет стремиться чисто механически выжимать

большее число молекул воды через мембрану наружу. В конечном счете давление будет возрастать до тех пор, пока увеличение его, способствующее проникновению молекул воды через мембрану, не сравняется с противодействием, оказываемом этому проникновению со стороны молекул растворенного вещества. Этим будет достигнуто состояние равновесия, и, благодаря содействию внутреннего давления, столько же частиц воды будет выходить из цилиндра наружу, сколько их проникает за то же время внутрь из окружающего пространства. Установившееся постоянное давление, регистрируемое манометром, будет поэтому равно тому, которое необходимо для отделения молекул воды внутри цилиндра от молекул растворенного вещества; следовательно, оно будет представлять собой величину осмотического давления. Этот принцип и лежит в основе методов измерения осмотического давления. На практике в качестве описанного выше цилиндра берется пористый, неглазированный глиняный сосуд. Оказывается, что его можно сделать полупроницаемым, по крайней мере в отношении некоторых растворов, вызывая в его порах образование осадка железисто-синеродистой меди; для этого его наполняют раствором сернокислой меди и погружают в раствор железистосинеродистого калия. Оба раствора при диффундировании встречаются в стенках пористого сосуда, вступают здесь в реакцию, и образующийся осадок железистосинеродистой меди поддерживается прочными глиняными стенками. После тщательного отмывания достаточно подобрать плотно входящую пробку с соответствующим манометром, и прибор может быть использован для измерения осмотического давления растворов таких веществ, которые не могут проникнуть через полученную мембрану.

Многие живые клетки, повидимому, ограничены мембранами, которые если не совсем полупроницаемы, то во всяком случае обладают весьма ограниченной проницаемостью по отношению к ряду растворенных веществ. Примером этого могут служить красные кровяные тельца. Если поместить их в раствор, концентрация которого ниже концентрации содержимого клетки, то в силу осмотического давления вода проникает в эритроциты, они набухают и, наконец, лопаются. При этом гемоглобин выходит в окружающую жидкость, и вся смесь приобретает прозрачную красную окраску, резко отличающую ее от исходной, непрозрачной крови. Принято говорить, что в результате подобного разрушения клеток получается «лаковая кровь». Надо иметь в виду, что получить лаковую кровь можно не только путем описанного осмотического воздействия. Оболочка эритроцита, помимо разрыва ее в результате воздействия гипотонических растворов, может быть разрушена и посредством ряда веществ, действующих на нее химически. К числу их относится, например, эфир, сапонин. Точно так же и яд ряда видов змей вызывает интенсивный гемолиз. Если кровь замораживается, то острые края ледяных кристаллов прокалывают оболочку эритроцитов и разрушают ее; поэтому повторные оттаивание и замораживание тоже ведут к образованию лаковой крови.

С другой стороны, если поместить кровяные тельца в крепкий раствор соли, то вода изнутри клетки притягивается раствором, выходит через клеточную оболочку наружу, и клетка сморщивается. Но существует некоторая строго определенная концентрация солевого раствора, при которой не будет наступать никаких изменений в содержании воды внутри клеток, и объем их остается неизмененным. Мы говорим, что такой раствор изотоничен или изосмотичен для данных клеток. Такой раствор, приготовленный из поваренной соли, обычно называется «физиологическим раствором». В растворе, изотоничном с кровяными тельцами лягушки, концентрация поваренной соли должна быть около 0,6%, для млекопитающих она составляет 0,95%. В таком растворе кровяные тельца сохраняют свое нормальное состояние. Все то, что сейчас сказано относительно красных кровяных телец, справедливо и для всякой другой клетки. Отсюда следует, что одно из важных требований, которым должна удовлетворять жидкость, способная сохранять в состоянии, возможно близком к нормальному, структуру и функциональные свойства ткани,—это то, чтобы жидкость обладала подходящим осмотическим давлением.

Возвращаясь еще раз к поведению красных кровяных телец в солевых растворах, мы должны притти к заключению, что соль неспособна проникать через их оболочку. Действительно, если бы она могла проходить внутрь эритроцита, то спустя некоторое время установилась бы одинаковая концентрация соли внутри и снаружи клетки, осмотическое давление прочих компонентов содержимого клетки ничем не компенсировалось бы, и мы получили бы лаковую кровь в растворе соли совершенно так же, как она получается в чистой воде. Но, поскольку кровяные тельца остаются при определенной концентрации солевого раствора в своем нормальном состоянии, мы должны заключить, что поваренная соль не может проникать внутрь клетки. Наоборот, если мы возьмем раствор хлористого аммония, то оказывается, что красные кровяные тельца разрушаются (гемолизируются) при любых концентрациях этого вещества; вывод отсюда тот, что клеточная оболочка свободно проницаема и для ионов аммония, и для ионов хлора. Следовательно, причина того, что хлористый натрий не проникает в эритроциты, должна заключаться в непроницаемости их оболочки по отношению к иону натрия. А если не могут проникать ионы натрия, то и их партнеры, ионы хлора, тоже не смогут проникнуть через оболочку, так как разделение друг от друга разноименно заряженных ионов сопровождалось бы возникновением таких значительных электростатических сил, которые тотчас остановили бы дальнейшее движение этих ионов. Мы имеем здесь частный пример общей закономерности: для того чтобы данная соль оказалась неспособной проникать через ту или иную мембрану, нет необходимости, чтобы последняя была непроницаема по отношению к обоим ионам соли. Если она непроницаема по отношению к одному из них, то и второй не сможет проникнуть через мембрану. Мы к этому еще вернемся в следующей главе.

Мембраны, с которыми мы встречаемся в живом организме, во многих отношениях отличаются от тех, с которыми имеет дело физико-химик. С одной стороны, в ряде случаев они не так абсолютно непроницаемы по отношению к растворенным кристаллоидам, как мы это имеем у мембраны из железосинеродистой меди; это видно хотя бы из того, что многие секреты содержат соли в тех же концентрациях, как и в крови. С другой стороны, мембраны, которые мы встречаем в теле животного, представляют собой обычно клеточные структуры, проницаемость которых определяется не только их физическими свойствами, но обусловлена также и теми процессами, которые протекают в образующих мембрану клетках. Мы хотим этим сказать, что в клетках может использоваться энергия происходящих в них окислительных и иных процессов, в одних случаях вызывая ускорение, в других — замедление проникновения тех или иных веществ через оболочку, облекающую клетку.

Разумеется, что в тех случаях, когда тот или иной компонент раствора не задерживается мембраной, а проходит через нее в неизмененной концентрации, никакой энергии на преодоление осмотического давления данного вещества не затрачивается, ибо если отсутствуют изменения в концентрации, то не приходится совершать работы для отделения растворенного вещества от растворителя. Мы упоминаем здесь об этом потому, что подобные условия, повидимому, имеются в почечных клубочках. Полагают, что мембрана, отделяющая кровь капилляров клубочка от полости боуменовой капсулы, является непроницаемой для белков крови, но беспрепятственно пропускает соли, сахар и мочевину. Если, таким образом, рассматривать клубочек просто как пассивный фильтр, работа которого определяется кровяным давлением, то из сказанного вытекает, что единственной силой, препятствующей фильтрации, является осмотическое давление белков крови. Точнее говоря, значение имеют лишь белки плазмы, так как гемоглобин заключен внутри кровяных телец и ни при каких условиях не может принимать участие в процессах фильтрации.

Осмотическое давление белков плазмы могло быть непосредственно измерено. Для этого нет даже надобности прибегать к применению какой-либо очень специальной мембраны, поскольку большинство животных перепонок непроницаемо для белков, для солей же, по крайней мере, если дело идет о мертвой мембране, они вполне проницаемы. Для данной цели отлично может быть применен пергамент. Если из него устроить осмометр и наполнить его кровяной плазмой, то оказывается, что в первые моменты после погружения его в чистую воду отмечается довольно значительное осмотическое давление. Но величина этого давления сравнительно быстро спадает, по мере того как обусловливающие его соли постепенно диффундируют сквозь мембрану наружу. Спустя некоторое время, когда процесс диффузии закончится, осмотическое давление останавливается на некоторой величине и дальше не меняется. Так как соли и прочие способные к диффузии веще-

ства к этому моменту оказываются в одинаковой концентрации по обе стороны мембраны и не могут влиять на осмотическое давление, то величина последнего может быть обусловлена только неспособными проходить через мембрану белками. Эта величина очень незначительна по сравнению с теми, которые свойственны солевым растворам обычных концентраций. Она составляет около 30 мм Hg, т. е. всего лишь 3 см ртутного столба.

Такова, следовательно, величина того давления, которое противодействует отфильтровыванию из кровяной плазмы раствора, содержащего исходную концентрацию кристаллоидов, но лишенного белков плазмы, задерживаемых фильтрующей мембраной. С другой стороны, сила, обусловливающая фильтрацию, равна разности гидростатических давлений крови в капиллярах клубочка, с одной стороны, и мочи в полости капсулы—с другой. Давление в капиллярах лишь немногим ниже общего кровяного давления, ибо эти капилляры обладают сравнительно широким просветом, который значительно сужается лишь после выхода капилляра из клубочка. Давление жидкости в капсуле очень невелико, так как моча по мере ее образования удаляется сокращениями мочеточника. Мы приходим, таким образом, к заключению, что при нормальных условиях имеющееся давление легко преодолевает сопротивление, создаваемое осмотическим давлением белков крови, и можно сказать, что клубочек с его капиллярами и капсулой представляет собой своеобразный прибор для фильтрования под давлением. Было установлено, что если эффективное давление, под которым совершается фильтрование, понижается, то прекращается и мочеотделение; это может произойти или вследствие падения кровяного давления, или при повышении давления внутри мочеточника. В последнем случае остановка мочеотделения происходит, когда давление в мочеточнике возрастет до величины, отличающейся от кровяного давления меньше, чем на 40 мм Hg: это тот момент, когда эффективное фильтрационное давление как раз уравновешивается осмотическим давлением белков крови. Отсюда следует, что главный процесс, лежащий в основе мочеотделения,— это фильтрационный процесс, причем необходимая для него энергия доставляется сердцем, поддерживающим нормальное кровяное давление. Очевидно, что при данном кровяном давлении фильтрование будет итти тем легче, чем ниже осмотическое давление белков плазмы. Известно, что осмотическое давление, обусловленное любым растворенным веществом, с большим приближением, а для разведенных растворов даже в точности,—пропорционально концентрации вещества. Если мы введем в кровь большое количество физиологического раствора, то кровяное давление, вследствие регулирующего действия сосудодвигательного центра, может остаться практически неизмененным, и тем не менее наступает усиленное мочеотделение; это вызвано тем, что солевой раствор разбавил плазму и тем самым понизил осмотическое давление белков ее, препятствующее фильтрованию мочи через капилляры клубочков. Любопытно отметить, что этот усиленный

солевой диурез не сопровождается повышением потребления кислорода почкой; из этого вытекает, что избыточная энергия, затрачиваемая на фильтрование, получается не за счет окислительных процессов в активных почечных клетках, а происходит из внешнего источника, каковым является работа сердца. Читателю теперь станет ясным, что для компенсации сильных падений кровяного давления, наступающих, например, при шоке, введение простых солевых растворов оказывается бесполезным. Это повлекло бы за собой разведение плазмы и снижение осмотического давления ее белков, препятствующего фильтрованию воды в почках. В результате фильтрование облегчилось бы и повлекло бы за собой усиленное мочеобразование до тех пор, пока весь введенный избыток жидкости не оказался бы выведенным. Но представим себе, что к солевому раствору мы прибавили какой-нибудь коллоид, который неспособен проникать через почечную мембрану и будет оказывать такое же осмотическое давление, как и белки плазмы. В этом случае никакого снижения силы, препятствующей фильтрованию, не наступит, и следовательно, не будет и усиленного мочеотделения. Введенная жидкость останется в кровеносной системе и будет способствовать поддерживанию нормального кровяного давления и нормального кровообращения на протяжении значительного промежутка времени. Удобным, неядовитым коллоидом, применимым для этой цели, является г у м м и-а р а б и к. Использование солевых растворов с добавкой гумми-арабика широко применяется для борьбы с последствиями сильных кровопотерь при ранениях. Мы указывали, что осмотическое давление белков плазмы составляет около 30 мм Hg; если мы хотим, чтобы наша жидкость, применяемая для вливания, возможно ближе воспроизводила нормальные условия, то величина осмотического давления гумми-арабика в ней должна быть такой же.

Совершенно очевидно, что все изложенные выше соображения имеют силу не только при прохождении воды через почечные клубочки как первом шаге мочеобразования, но и при проникновении жидкости через капилляры тела вообще как первом шаге образования лимфы. И здесь движущей силой для фильтрации будет механическое давление крови в каждом данном участке капиллярной сети; это давление тем выше, чем шире просвет капилляра, и, следовательно, чем больше та доля общего кровяного давления, которая на него приходится. И здесь, для того, чтобы фильтрация вообще могла иметь место, необходимо преодолеть обратное осмотическое притяжение, обусловленное белками плазмы; наконец, кроме указанных факторов, скорость фильтрации будет определяться еще одним—проницаемостью капиллярной стенки. Более детальное изложение тех условий, которые могут изменять каждый из этих трех факторов, читатель найдет в руководствах по физиологии.

Если мы от изучения условий образования мочи и лимфы перейдем к работе таких секреторных органов, как, например, слюн-

ная железа, то мы тотчас увидим, что мы имеем тут дело с явлениями, которые не могут рассматриваться как простой процесс фильтрации. Если мы обнаруживаем, например, что работающая подчелюстная железа способна сецернировать слюну до тех пор, пока давление во вставленном в ее проток манометре не станет значительно выше существующего в артериях, снабжающих железу кровью, то отсюда с очевидностью следует, что для выполнения работы, требующейся для выделения секрета под давлением более высоким, чем в кровеносных сосудах, активные клетки должны черпать энергию за счет протекающих в них процессов обмена.

Заканчивая изложение осмотических явлений, мы должны еще раз вернуться к величине осмотического давления белков плазмы, чтобы подчеркнуть, что величина эта, лежащая около 30 мм Hg, чрезвычайно мала по сравнению с теми величинами, которые наблюдаются в растворах кристаллоидов, как, например, соли или углеводы. Это объясняется тем, что осмотическое давление, вызываемое всяким растворенным веществом, пропорциально числу частиц его, имеющихся в единице объема раствора, и не зависит от природы или величины их. Когда мы имеем белки или гуммиарабик, то частицы велики, а число их в единице объема при обычных концентрациях растворов сравнительно незначительно, и соответственно этому осмотическое давление низко.

С другой стороны, так как молекулы солей или сахара малы, то даже небольшое весовое количество этих веществ содержит очень большое число частиц, количество их в единице объема велико, и соответственно высоко и осмотическое давление. Оказывается, что вещество в растворе ведет себя так, как если бы оно находилось в газообразном состоянии и занимало тот же объем, какой занимает раствор. Осмотическое давление равно тому, какое мы имели бы, если бы превратили вещество в газ и привели его к тому же объему и температуре, как наш раствор. Известно, что грамм-молекула любого газообразного вещества, занимая объем в 22,4 л, при 0° дает давление ровно в одну атмосферу. Точно так же, грамм-молекула всякого вещества, будучи растворена в общем объеме, равном 22,4 л, дает при 0° осмотическое давление в одну атмосферу. Отсюда следует, что раствор, содержащий одну грамм-молекулу в одном литре, будет обладать осмотическим давлением в 22,4 атмосферы, так как давление прямо пропорцинально концентрации. Если мы имеем дело с электролитом, то давление будет еще выше, так как его молекулы в большей или меньшей степени распадаются на ионы, и общее число частиц в растворе возрастает, а ионы в совершенно такой же мере участвуют в создании осмотического давления, как и целые, недиссоциированные молекулы.

Выше отмечалось, что и упругость паров, и температура замерзания у раствора ниже, чем у чистого растворителя; снижение этих величин пропорционально общей молекулярной и ионной концентрации раствора. Поэтому оказывается возможным по опре-

делению точки замерзания судить об общем осмотическом давлении; этим часто и пользуются при исследовании биологических жидкостей. Надо, однако, иметь в виду, что точность таких определений не очень высока, а главное они ничего не говорят об относительных концентрациях каждого отдельного вида молекул и ионов, потому что, как указывалось, в разведенных растворах осмотический эффект зависит только от общей концентрации частиц, но не от их природы или размеров. В последнее время разработаны чрезвычайно тонкие термо-электрические методы для точного измерения упругости паров; эти методы были применены для точного учета изменений общего осмотического давления при различных физиологических процессах. Так, было обнаружено, что при связывании кровью углекислоты изменение оказывается меньше, чем следовало бы ожидать, если допустить, что вся углекислота связывается в виде бикарбоната; оказалось, что при сокращении мышцы изменение осмотического давления больше, чем это соответствовало бы сумме всех уловимых аналитическими методами химических реакций. Это указывает на то, что в обоих случаях мы должны искать еще какие-то химические процессы, которые нам в настоящее время неизвестны. Тот же метод был использован для измерения изменения упругости паров, наступающего при растворении некоторого определенного количества того или иного растворимого вещества (например, поваренной соли) в какой-либо сложной биологической жидкости или в соке какой-либо ткани; из величины наступающего понижения упругости пара можно вывести заключение о том, какая часть воды в исследуемом объекте является «свободной», т. е. способной служить растворителем, и какая является «связанной», т. е. не выполняет функций растворяющей среды.

Не всегда ясно отдают себе отчет в том, каковы взаимоотношения между процессами простой диффузии растворенного вещества, свободно распространяющегося по всей массе растворителя, и явлениями осмотического давления, проявляющимися в том случае, если имеется полупроницаемая перепонка. Следующие соображения помогут внести ясность в этот вопрос. Стремление растворенного вещества диффундировать по всему объему жидкости обусловлено теми же силами притяжения между молекулами растворителя и растворенного вещества, которые проявляются в осмотическом давлении. При отсутствии полупроницаемой перепонки не только молекулы растворенного вещества, но и молекулы растворителя могут свободно перемещаться под влиянием сил взаимного притяжения. Они поэтому распределяются между молекулами растворенного вещества до тех пор, пока не будет достигнуто равенство концентраций во всех участках раствора. По достижении этого момента система приходит в равновесие. С другой стороны, если растворенное вещество отграничено мембраной, через которую оно неспособно проникать, то притяжение между ним и растворителем может вызвать только передвижение молекул последнего. Эти частицы растворителя притягиваются внутрь отграниченнего.

ного мембраной пространства, вследствие чего здесь повышается давление, что мы и обозначаем как осмотическое давление. Необходимо отдать себе отчет в том, то стремление к выравниванию концентраций растворенных веществ существует во всех жидкостях организма, и всякий процесс, противодействующий этому стремлению и ведущий к созданию разностей концентраций, неизбежно требует затраты некоторой энергии со стороны тех тканей, которые в данном процессе участвуют. Следует, однако, иметь в виду, что в организме нередко осмотические эффекты оказывают даже ускоряющее влияние на процессы диффузии. Возьмем, например, случай, когда раствор кристаллоида отделен мембраной, для него полностью проницаемой, от раствора коллоида, который через эту мембрану проходить не может; тогда вода, притягиваемая осмотическими силами в раствор коллоида, увлекает вместе с собой и растворенные в ней кристаллоиды. Однако если кристаллоиды проникают через мембрану с трудом, то проникновение раствора через мембрану замедлится, ибо ему теперь будет противодействовать осмотическое давление на «кристаллоидной» стороне мембраны. С этими условиями приходится считаться, когда речь идет, например, о всасывании из пищеварительного канала; здесь продукты переваривания пищи представляют собой кристаллоиды, отделенные стенкой кишечных ворсинок от раствора коллоидов—кровяной плазмы. Но и в этом случае, как в разбиравшемся выше случае секреции, мы сталкиваемся с тем, что клетки, из которых построена мембрана, разграничивающая два раствора, являются главными образованиями, способными освобождать и использовать энергию, за счет которой могут осуществляться процессы, идущие вопреки тем законам, которые управляют диффузией и осмосом в неживых системах. Клетку, участвующую в процессах всасывания, мы можем сопоставить с сецернирующей клеткой, только действие ее направлено в противоположную сторону. Наиболее убедительным доказательством этого может служить тот факт, что если использовать кусок живой кишечной слизистой оболочки в качестве осмометра, то оказывается, что она способна вызвать передвижение с одной стороны на другую и накоплять здесь изотонический раствор, чего с неживой мембраной, лишенной источников энергии, осуществить невозможно.

ГЛАВА XIX

ДАЛЬНЕЙШИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ. КОЛЛОИДЫ. АДСОРБЦИЯ. РЕАКЦИЯ ТКАНЕВЫХ ЖИДКОСТЕЙ. ФУНКЦИИ ЭЛЕКТРОЛИТОВ

«Коллоиды обладают энергией. Ее следует рассматривать как вероятный первоисточник сил, проявляющихся в жизненных явлениях».

Грэм

Коллоиды. Адсорбция

Раствор обычного кристаллического вещества, как мочевина или сахар, может служить примером наиболее простой из тех форм растворов, которые нам вообще известны. Мы представляем себе молекулы растворенного вещества распределенными поодиночке между молекулами воды или другого растворителя и находящимися в непрерывном движении, подобно молекулам газа. Если растворенным веществом является соль, то система оказывается уже более сложной, так как соль в большей или меньшей мере будет распадаться на ионы. Но и в этом случае как молекулы, так и ионы малы по своим размерам и подвижны. Однако если мы обратимся к раствору такого вещества, как белок или крахмал, то увидим существенное отличие от растворов солей или мочевины: те частицы, на которые в конечном счете распадается при растворении белок, оказываются очень крупного размера и соответственно значительно менее подвижными. Поэтому они диффундируют в воде со скоростью, которая чрезвычайно мала по сравнению со скоростью диффузии кристаллических веществ. Впервые это различие отметил Грэм, который и классифицировал все вещества на две группы: такие, которые обладают способностью к быстрой диффузии, и такие, которые этой способности лишены. Бóльшая часть представителей первой группы представляет собой кристаллические вещества; поэтому Грэм обозначил их как к р и с т а л л о и д ы. С другой стороны, он предложил наименование к о л л о и д ы для медленно диффундирующих веществ, производя это наименование от греческого названия одного из типичных представителей этой группы—клея (по-гречески colla). Грэм нашел далее, что вещества, отнесенные им в группу коллоидов, неспособны проходить через пергаментную перепонку, которая не представляет почти никакого препятствия для проникновения веществ кристаллоидных, как сахар или соли. В качестве первого приближения можно сказать, что причиной неспособности коллоидов проникать через перепонку является большой размер их частиц, что не дает им возможности проходить в пространства между молекулами того вещества, из которого построена мембрана. Это обстоятельство имеет большое значение для процессов пищеварения, ибо бóльшая часть обычных пищевых веществ, как, например, белки, крахмал и пр., обладают коллоидальной при-

родой и поэтому совершенно не могут диффундировать через слизистую оболочку, отделяющую пищеварительный канал от кровеносных сосудов. Лишь в результате переваривания пищи ее высокомолекулярные компоненты распадаются на более простые молекулы—аминокислоты, простые углеводы, которые относятся уже к группе кристаллических веществ и соответственно этому отличаются способностью быстро диффундировать. С этой точки зрения, мы вправе сказать, что результатом переваривания пищи является превращение ее коллоидальных компонентов в кристаллоидные продукты, для которых животные перепонки оказываются легко проницаемыми.

Из числа этих кристаллоидов некоторая часть снова ресинтезируется в коллоидальные составные части клеток: углеводы образуют гликоген, аминокислоты—белки. Из того, что мы говорили в одной из первых глав, мы должны вывести заключение, что роль пищеварения заключается не только в том, чтобы, превратив коллоидальные составные части пищи в кристаллоидные, облегчить всасывание из кишечника, но также и в том, чтобы дать организму возможность путем соответствующей перегруппировки первичных структурных элементов построить вещества, отличающиеся от тех, которые содержались в пище. Так, из растительного крахмала в организме получается гликоген, из белков мяса какого-либо животного могут быть построены белки человеческого тела.

В виде коллоидальных растворов существуют не только такие естественные природные вещества, как белки или крахмал. Уже давно стали известны коллоидальные растворы многих металлов, их окислов и сульфидов; они служили объектами опытов еще Фарадею. Разумеется, эти вещества не образуют коллоидальных растворов самопроизвольно, как мы это наблюдаем в отношении крахмала или белка, которые для этого достаточно взболтать с водой. Для приготовления коллоидальных растворов неорганических веществ или вызывают осаждение их в чрезвычайно мелкораздробленном состоянии, или же, если дело касается металлов, вызывают образование электрической дуги между двумя электродами данного металла, погруженными в воду. В последнем случае металл, повидимому, испаряется, и пары его, соприкасаясь с водой, тотчас конденсируются в виде чрезвычайно малых частиц. Этим путем возникает бесчисленное множество частиц металла, которые настолько малы, что способны неограниченно долго оставаться взвешенными в растворе, но в то же время по сравнению с растворенными молекулами кристаллоида они кажутся обладающими весьма значительными размерами и соответственно значительно меньшей подвижностью. Размеры таких коллоидальных частиц достаточно велики, чтобы отражать и рассеивать падающий на них свет. Благодаря этому, если осветить коллоидальный раствор сбоку идущим в горизонтальном направлении сильным пучком света, то отражаемый частицами свет рассеивается во все стороны, и, поместив сверху микроскоп, можно при достаточном увеличении уви

деть каждую отдельную коллоидную частицу, представляющуюся в виде сверкающей точки. При помощи такого рода прибора, называемого ультрамикроскопом, удается получить представления о числе, размерах и характере движения коллоидных частиц.

Коллоидальные растворы белков или крахмала существенно отличаются от коллоидальных растворов платины, золота или других неорганических веществ. Это различие касается также величины сродства между коллоидными частицами и той водой, в которой они взвешены. Частицы металла, например, в коллоидном растворе платины, мало связаны с водой, и весь раствор в целом представляет собой подвижную жидкость, не отличающуюся по своей вязкости от чистой воды; мы называем такой раствор золем. В противоположность этому в растворе белка молекулы последнего, повидимому, каким-то образом удерживают значительные количества воды, так что раствор представляется густым и вязким и обладает наклонностью легко превращаться в студнеобразное состояние геля.

Легко подвижные гидрофобные коллоидальные растворы типа коллоидной платины обозначаются иначе как относящиеся к группе суспензоидов; вязкие гидрофильные коллоидальные растворы, примером которых служит раствор белка, относят к группе эмульсоидов. Одним из немногих неорганических веществ, дающих такого же рода растворы, является кремневая кислота. С точки зрения физиологии, эмульсоиды представляют несравненно больший интерес, так как в эту группу входят все коллоидальные составные части живой материи, и в первую очередь ее самый главный компонент—белки. Несомненно, что многие свойства и особенности живой протоплазмы, как, например, ее вязкость, способность поглощать воду, способность извлекать из окружающей среды или отдавать в нее те или иные вещества—все это в значительной степени зависит от эмульсоидных свойств главнейших ее составных частей. Коллоиды, принадлежащие к группе эмульсоидов, вследствие их высокого сродства к молекулам воды, гораздо прочнее удерживаются в растворе, чем суспензоиды. Они гораздо менее чувствительны, чем последние, к различным солям и соответственно этому труднее ими осаждаются. Мы неоднократно упоминали об явлении «денатурирования» белка; надо полагать, что причина наступающей при этом коагуляции заключается в том, что белок под влиянием денатурирующих воздействий каким-то образом утрачивает характерную для него, как для эмульсоида, связь с молекулами воды, приобретает свойства суспензоида и как таковой легко осаждается из раствора, нередко образуя при этом плотный сгусток. Что это действительно так, можно видеть, если нагреть до кипения раствор белка в щелочи или в кислоте. При этом не наступает никаких внешних проявлений, но тем не менее белок претерпел существенные изменения. Он может быть теперь осажден путем простой нейтрализации раствора или при полунасыщении сернокислым аммонием, между

тем как в исходном растворе альбумина эти воздействия никакого бы осадка не вызвали. Аналогичные (но только обратимого характера) превращения эмульсоидов в суспензоиды описаны также при явлениях движения протоплазмы, например, при образовании псевдоподий у амебы.

Фактором, имеющим выдающееся значение для устойчивости всех коллоидальных растворов, является то обстоятельство, что дисперсные частицы их несут определенный электрический заряд. Это обнаруживается в том, что если пропустить через коллоидальный раствор электрический ток, то частицы начинают передвигаться в том или ином направлении. Для некоторых случаев возникновение такого заряда легко можно себе объяснить. Так, например, если мы имеем дело с коллоидальным раствором платины, то частицы раздробленного металла посылают в раствор ионы. Эти ионы несут положительный заряд, и соответственно этому частица, которую они покинули, остается с зарядом отрицательного знака. Белок в слегка щелочном растворе ведет себя как слабая кислота: отдает в раствор положительно заряженные ионы водорода и сам приобретает отрицательный заряд. С другой стороны, в кислом растворе белок, подобно амфотерным аминокислотам, из которых он построен, обнаруживает свойства слабой щелочи, отщепляет отрицательно заряженные гидроксильные ионы, и остающаяся частица приобретает положительный заряд. Легко представить себе, что при некоторой промежуточной степени кислотности или щелочности белок будет отдавать равные количества водородных и гидроксильных ионов; частица белка будет при этом приобретать равное число положительных и отрицательных зарядов, т. е. останется электронейтральной. Та реакция, при которой такое явление наступает, обозначается как *изоэлектрическая точка* данного белка (или всякого иного амфотерного вещества). Поскольку в этой точке частицы белка не имеют электрического заряда, они не передвигаются в электрическом поле. Мы видим, следовательно, что могут существовать как положительно, так и отрицательно заряженные коллоиды, и знак заряда определяет направление их движения при пропускании электрического тока через их раствор. Как мы уже отмечали, наличие заряда способствует устойчивости коллоидной частицы и препятствует этим частицам соединяться вместе в более крупные агрегаты, которые выпали бы из раствора. Это происходит потому, что все частицы несут одноименные заряды и, следовательно, взаимно отталкиваются. Если, однако, мы в коллоидальный раствор внесем ионы, обладающие противоположным по сравнению с коллоидными частицами знаком заряда, то они, встречаясь с этими частицами, будут отдавать им свой заряд; произойдет частичная взаимная нейтрализация; при достаточном количестве таких противоположно заряженных ионов все коллоидные частицы могут оказаться лишенными своего заряда, они начнут собираться вместе и будут выпадать из раствора. Само собой разумеется, что сила такого действия ионов зависит от числа несомых ими зарядов, и соответственно этому двухвалент-

ные ионы действуют сильнее одновалентных, а осаждающее действие трехвалентных ионов проявляется уже при чрезвычайно низких концентрациях. Совершенно ясно, что данный коллоид будет осаждаться только ионами противоположного знака заряда. Указанная связь между коллоидами и несущими электрические заряды ионами чрезвычайно важна, так как важнейшим свойством коллоида является его устойчивость, и изучение всякого фактора, влияющего на это свойство и изменяющего его, несомненно, должно дать нам более глубокое представление о природе и особенностях всей коллоидной системы в целом. Как мы увидим дальше, мощное влияние ионов, проявляемое ими в отношении живых тканей, должно быть отнесено за счет тех изменений, которые они вызывают в состоянии коллоидных составных частей клетки.

Из сказанного выше становится ясным, почему белки легче всего осаждаются при их изоэлектрической точке—в этот момент в растворе имеется наибольшее число незаряженных частиц, и легче всего может наступить их агрегация в более крупные комплексы и, наконец, в хлопья, осаждающиеся из раствора.

Коллоидную частицу можно разрядить и осадить не только действием противоположно заряженного иона. Такое же действие окажут и частицы другого коллоида, если они несут заряд противоположного знака. Этим обстоятельством пользуются, например, для осаждения положительно заряженным коллоидальным раствором гидроокиси железа отрицательно заряженных в слабощелочной среде белков тех или иных биологических жидкостей, например, молока или крови, при исследовании содержащихся в этих объектах кристаллоидных составных частей. Часто встречается, однако, и обратное явление, когда частицы одного коллоида защищают частицы другого против осаждающего действия тех или иных ионов. Уже Фарадею было известно, что следы «студня» препятствуют осаждению коллоидного золота солями; этим явлением пользуются в настоящее время и в медицине для того, чтобы получить представление об относительном содержании альбумина, стабилизирующего, подобно желатине, коллоидное золото, и глобулина, сенсибилизирующего этот коллоид, в таких средах, как спинномозговая жидкость, сыворотка и пр. Для этого берут стандартные растворы коллоидного золота и поваренной соли, с одной стороны, и ряд разведений испытуемой жидкости—с другой, и по полученному эффекту судят о стабилизирующем или сенсибилизирующем действии, а отсюда и об относительном содержании альбуминов и глобулинов.

Из тех примеров, которые мы привели выше, вытекает, что даже при наиболее благоприятных условиях коллоидные частицы не являются абсолютно устойчивыми в своих растворах. Правда, благодаря непрерывным толчкам о них молекул воды и взаимному отталкиванию, обусловленному одноименными зарядами, скорость выпадения коллоидных частиц из раствора под действием силы тяжести может быть неизмеримо мала. Но если посредством турбинной ультрацентрифуги привести такой раствор

во вращательное движение со скоростью около 160 000 оборотов в минуту, то сила, действующая на частицы, почти в миллион раз превысит силу тяжести, и под влиянием этой центробежной силы частицы коллоида, даже такого устойчивого, как белок, начнут осаждаться. Путем измерения скорости этого осаждения оказалось возможным получить представление о размерах частиц в таких коллоидальных растворах. Если рассматривать эти частицы как молекулы, то мы приходим к неожиданным выводам. Оказывается, что молекулярный вес нативных белков всегда представляет кратное одной и той же элементарной величины, а именно 34 500. Так, для яичного бекла найден «молекулярный вес» равный 34 500, для гемоглобина—около 68 000, т. е. вдвое больше, для сывороточного глобулина—около 105 000, т. е. троекратная величина, для растительных белков—шестикратные величины. Для некоторых белков, главным образом из группы кровяных пигментов некоторых низших животных, получаются цифры порядка миллионов. Надо, однако, сказать, что представляется спорным, можно ли применять понятие молекулы в его чисто химическом смысле не только к белкам, но и к другим коллоидальным веществам биологического происхождения, как крахмал, клетчатка, каучук и пр. Не исключена возможность, что коллоидальная белковая частица представляет собой агрегат или мицеллу, построенную из однородных пептидных цепочек, так что если бы мы могли, произведя ультрамикроскопическую операцию, разрезать такую мицеллу на части, то каждая обладала бы химическим составом, тождественным с составом всей частицы в целом. Это представление находит известное подтверждение в данных рентгеновского анализа, обнаруживающего некоторое кристаллическое строение у подобных «сверхмолекулярных» образований.

Ряд дальнейших свойств вещества в коллоидном состоянии обусловлен тем обстоятельством, что частицы раздробленного вещества в своей совокупностио бладают огромной поверхностью соприкосновения с той жидкостью, в которой они взвешены. Другими словами, в коллоидах мы имеем условия, способствующие особенно сильно выраженному проявлению поверхностных явлений. Для того чтобы дать некоторое наглядное представление об этом возрастании поверхности при раздроблении вещества, можно указать, что если раздробить кусок вещества, объемом в обыкновенный мячик, на частицы такого размера, как коллоиды, то общая поверхность этих частиц составит около полугектара. Говоря о свойствах желчных кислот, мы кратко коснулись природы поверхностной энергии. Кроме желчных кислот, мы знаем ряд других веществ, обладающих способностью понижать поверхностное натяжение. Чем больше такого вещества содержится в растворе, тем сильнее оно понижает поверхностное натяжение. Общим законом является, что свободная энергия системы всегда стремится к наименьшей возможной величине, и если в системе может произойти какое-либо превращение, влекущее за собой снижение свободной энергии, то всегда будет иметься тенденция к такому превращению. Так, например, вся-

кая масса материи стремится понизить свою свободную энергию, падая из исходного положения до некоторого более низкого уровня; тепло стремится перейти от места с более высокой температурой к месту с более низкой, так что устанавливается равенство температур, и хотя общее количество тепла осталось неизменным, но тепло уже не имеется в «свободном» состоянии, т. е. в таком виде, в котором оно может быть превращено в механическую работу. Вернемся теперь к рассмотрению того случая, когда мы имеем в растворе вещество, способное понижать поверхностную энергию. Представим себе, что вначале вещество распределено равномерно по всей массе раствора. Если оно теперь начнет накапливаться в поверхностном слое, понижая при этом поверхностное натяжение, то тем самым свободная энергия всей системы будет уменьшаться. И действительно, мы видим, что подобное перемещение такого вещества в поверхностный слой имеет место и происходит самопроизвольно. Установлено, что всякое вещество, понижающее поверхностное натяжение, в поверхностном слое находится в более высокой концентрации, чем в остальном объеме раствора. Такое вещество диффундирует в поверхностный слой до тех пор, пока уменьшение поверхностного натяжения, вызванное этим перемещением, как раз не уравновесится обратным стремлением вещества переходить в тот объем, где его концентрация оказывается теперь более низкой.

Этот процесс накопления веществ в поверхностном слое носит название адсорбции; здесь мы имеем дело с простым скоплением лишь на поверхности, в отличие от явлений абсорбции, где происходит проникновение одного вещества внутрь другого. Не всегда легко отграничить этот процесс чисто физической адсорбции вещества на поверхности от связывания его за счет настоящих химических сил. В последнем случае накопляющееся на поверхности вещество будет концентрироваться лишь на определенных участках поверхности, соответствующих расположению тех или иных участвующих в реакции химических групп; при чисто физической же адсорбции мы должны ожидать равномерного распределения вещества по всей поверхности, поскольку это позволяет, по крайней мере, молекулярная структура ее. Многие типичные процессы адсорбции происходят на поверхности стекла или угля, где трудно ожидать наличия сколько-нибудь значительных химических сил сродства по отношению к адсорбируемому веществу.

Одним из весьма наглядных примеров адсорбции может служить адсорбция перманганата на поверхности стекла. Эта соль понижает поверхностное натяжение на границе раздела между жидкостью и стеклом и, следовательно, стремится накопиться на этой поверхности. При прямом наблюдении за интенсивностью окраски раствора, например, на стенках стакана, в который он налит, мы не сможем заметить указанного накопления, так как количество скопляющегося здесь вещества очень незначительно. Но если мы приведем тот же раствор в соприкосновение с более значитель-

ной поверхностью, например, пропуская его через трубку, набитую стеклянной ватой, то мы увидим, что перманганат адсорбируется настолько сильно, что первые вытекающие порции раствора оказываются совсем бесцветными. Можно также обнаружить процесс адсорбции, следя за уменьшением концентрации таких веществ, как иод, уксусная кислота или ацетон, при взбалтывании их растворов с животным углем. Большой интерес представляет выяснение зависимости между количеством вещества, адсорбированного единицей поверхности, и тем количеством, которое по достижении состояния равновесия остается в растворе. Путем прямого химического анализа раствора до и после произошедшей адсорбции во многих случаях было найдено, что количество адсорбированного вещества пропорционально корню второй (или близкой) степени из концентрации раствора. Если через c_a обозначить концентрацию вещества в поверхностном слое, а через c_s концентрацию вещества, оставшегося в растворе, то мы получаем соотношение:

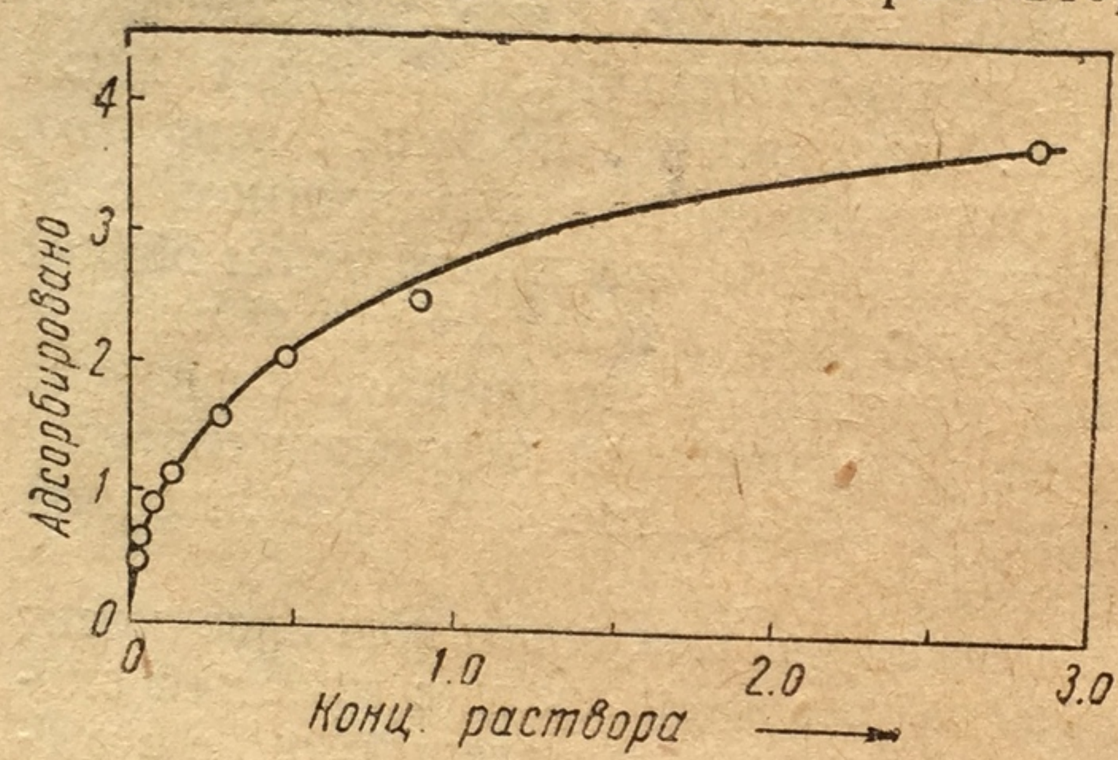


Рис. 20. Адсорбция уксусной кислоты углем из водного раствора.

$$c_a = k\sqrt[n]{c_s}$$

или

$$c_a = kc_s^{\frac{1}{n}},$$

где n является числом, близким к 2, а k представляет собою константу, величина которой зависит от природы исследуемого вещества, и от характера адсорбирующей поверхности.

Если приведенное выражение изобразить графически, то мы получаем кривую, представляющую собой параболу (рис. 20). Из ее формы мы можем заключить, что относительная величина адсорбированного количества по сравнению с количеством в растворе оказывается значительно более высокой в первых, круто поднимающихся участках кривой, чем в последующих, более полого идущих; другими словами, это значит, что из растворов с низкой концентрацией адсорбируется относительно бо́льшая доля всего растворенного вещества, чем из высококонцентрированных растворов. В процессе практической химической работы часто приходится сталкиваться с этим обстоятельством. Постоянно применяемым приемом является удаление малых количеств сильно окрашенных примесей из органических препаратов посредством измельченного животного угля. С другой стороны, работающему в лаборатории известно, как трудно бывает удалить со стекла последние следы какой-либо воднорастворимой краски, которая адсорбировалась на стенках колбы или стакана. Но в этом слу-

чае краска обычно легко удаляется при помощи спирта; это указывает на то, что адсорбция происходит не с одинаковой легкостью из разных растворителей, в частности, из спиртовых растворов она обычно идет хуже, чем из водных. Этот же принцип в настоящее время широко применяется для изолирования и разделения нестойких веществ, как ферменты, витамины, бактериальные токсины и антитела. Подлежащий выделению материал адсорбируют на подходящем адсорбенте—часто пользуются глиноземом или другими сходными неорганическими веществами, и затем извлекают соответствующим растворителем; для этого извлечения, или «элюции», обычно пользуются теми или иными солевыми растворами.

Соответственно уравнению, приведенному выше, и параболической кривой, изображенной на рис. 20, мы видим, что как бы высока ни была концентрация исходного раствора, всякое дальнейшее повышение концентрации должно вызвать еще некоторое добавочное адсорбирование вещества в поверхностном слое. Однако следует подчеркнуть, что эта закономерность сохраняет свою силу лишь в наиболее простых случаях. Нередко оказывается, что поверхность обнаруживает тенденцию к «насыщению» и после известного предела не адсорбирует дальнейших количеств вещества, как бы мы ни повышали его концентрации в растворе. Рассматривая результаты опытов, не так-то легко решить, соответствуют ли они параболической зависимости или нет; но если выразить приведенное выше уравнение в логарифмической форме, то мы получаем такое выражение:

$$\log c_a = \log k + \frac{1}{n} \log c_s.$$

Из него следует, что если указанная зависимость действительно имеет место, то логарифм адсорбированного количества возрастает прямо пропорционально логарифму концентрации растворенного вещества, так что при графическом изображении этих величин мы получаем прямую, а установить, имеет ли линия характер прямой или нет, гораздо проще и легче, чем установить ее параболическую форму.

Вследствие явлений адсорбции нам не приходится ожидать сколько-нибудь равномерного распределения солей, углеводов и прочих кристаллоидов, содержащихся в клеточной протоплазме; коллоидальные компоненты ее создают практически неограниченные возможности для действия поверхностных сил. Оказывается, далее, что прямыми опытами можно обнаружить у веществ с высокой поверхностной активностью способность вытеснять с поверхности адсорбированные там менее поверхностно-активные вещества. Поскольку ряд лекарственных веществ, в частности, многие наркотические средства, оказываются обладающими весьма высокой поверхностной активностью, то действие этих веществ можно истолковать как результат вытеснения ими нормальных составных частей клетки с тех поверхностей, на которых обычно протекают их химические превращения в процессах обмена веществ.

Но этим еще не исчерпываются наши представления о поведении веществ в поверхностном слое. Лэнгмюр показал, что если капле жирной кислоты дать возможность распространяться на поверхности воды до тех пор, пока образуемая этой кислотой пленка не достигнет толщины всего в одну молекулу, то площадь, занимаемая такой пленкой, оказывается совершенно одинаковой для всевозможных жирных кислот, независимо от длины их углеродной цепи. Это можно объяснить только таким образом, что молекулы жирной кислоты расположены на поверхности воды «стоймя», так что пространство, занимаемое каждой молекулой, соответствует величине поперечного сечения (которое будет одинаковым у всех кислот) и не определяется длиной цепи, которая у разных кислот будет различна. Несомненно, что к воде притягивается более «гидрофильная» часть молекулы, именно ее карбоксильная группа, тогда как нерастворимая в воде углеводородная цепь расположится кнаружи. Этот же метод исследования был применен к ряду других соединений, так что мы в настоящее время располагаем довольно обстоятельными сведениями относительно пространственной ориентации различных «полярных» молекул на поверхностях раздела двух фаз. На основании сказанного естественно предположить, что ориентированные таким образом молекулы, находящиеся в поверхностном слое, будут обладать несколько иными химическими свойствами, чем те, которые они обнаруживают в растворе, где подобное упорядоченное расположение отсутствует. Это, действительно, в ряде случаев удается непосредственно обнаружить. В качестве примера можно привести данные, заимствованные из совсем недавних наблюдений, касающиеся поведения краски малахитгрюн на поверхности раздела бензол—вода. Раствор этой краски в $n/_{10}$ соляной кислоте бесцветен, и если сверху на этот раствор налить слой бензола, то тоже никакой окраски не обнаруживается. Но если теперь сильно взболтать обе жидкости, так, чтобы бензол разбился на мелкие капельки и образовал эмульсию, то поверхность раздела бензол—вода сильно возрастает, и вся смесь приобретает травянисто-зеленый цвет вследствие того, что в поверхностном слое краска обладает зеленым цветом. Если дать смеси отстояться, так что бензол снова соберется в слитную массу на поверхности, то окраска опять исчезнет. Представляется весьма правдоподобным, что ферменты, а также некоторые гормоны, как, например, инсулин, также меняют свои свойства на поверхностях своих коллоидальных «носителей» и вне этих поверхностей утрачивают свою активность. Уже из приведенных примеров ясно, какое огромное значение при дальнейших исследованиях нужно будет приписать поверхностным силам в явлениях жизнедеятельности, поскольку живое вещество, при всей его кажущейся однородности, на самом деле обладает громадными поверхностями.

Реакция жидкостей организма

Уже давно было известно, что многие физиологические процессы в значительной степени зависят от реакции окружающей среды.

Возьмем в качестве примера деятельность сердца. Если среда, в которую помещено сердце или протекающая через него жидкость, обладает слишком щелочной реакций, то сердце вскоре останавливается в состоянии сокращения. Если же жидкость, в которую помещено сердце, обладает кислой реакцией, то сердечные сокращения тоже вскоре останавливаются, но на этот раз сердечная мышца оказывается в совершенно расслабленном состоянии. Если же омывающая сердце жидкость обладает некоторой, совершенно определенной оптимальной реакцией, то сердечные сокращения длятся долго, и сердце поочередно переходит из состояния сокращения в состояние расслабления и наоборот. При этом важно отметить, что существуют лишь очень узкие границы кислотности, в пределах которых сердце может работать нормально: за этими пределами ритмическая деятельность сердца оказывается невозможной. Это может служить прекрасным примером того, как ничтожные изменения реакции среды способны глубоко изменять физиологическое поведение ткани.

Отсюда нам становится понятным, почему при физиологических работах всегда так важен точный учет реакции применяемых жидкостей. Не только сердечная деятельность, но, практически говоря, все физиологические процессы могут протекать лишь в среде, обладающей некоторой, совершенно определенной реакцией, и тотчас останавливаются при изменении ее в кислую или щелочную сторону. Это же справедливо и для жизнедеятельности организма в целом. Достаточно крови приобрести чуть кислую реакцию—даже менее кислую, чем реакция дестиллированной воды, поглотившей из воздуха следы углекислоты,—и человек погибает в состоянии комы. Если кровь станет чуть щелочнее, чем нормально, и достигнет, например, реакции обычной водопроводной воды, то человек погибает при явлениях тетании. В течение всей жизни организм должен поддерживать реакцию крови где-то посредине между этими двумя величинами.

На протяжении последних двух десятилетий наши познания о реакции растворов стали значительно более определенными, чем раньше, так как стало известным, что кислые свойства раствора обусловлены наличием избытка ионов водорода, а щелочные свойства—избытком гидроксильных ионов; в нейтральном растворе мы имеем одинаковое количество как гидроксильных, так и водородных ионов. Типичной нейтральной жидкостью является вода. Чистая вода не является совершенно свободной от водородных и гидроксильных ионов, но содержит оба эти вида ионов в одинаковой концентрации, так как они образуются в результате электролитической диссоциации, или, как иначе говорят, ионизации некоторой части молекул воды; это может быть представлено следующим уравнением:

$$H_2O \rightleftarrows H^+ + OH^-.$$

Совершенно очевидно, что при ионизации воды неизбежно будет образовываться одинаковое количество водородных и гидро-

ксильных ионов, ибо если от молекулы воды отщепится ион водорода, то оставшаяся часть будет представлять собой ион гидроксила.

Допустим, что мы желаем повысить концентрацию ионов водорода в каком-либо растворе так, чтобы она превышала концентрацию гидроксильных ионов. Проще всего этого можно достигнуть, прибавив какой-либо кислоты, например, соляной. При растворении этой кислоты в воде молекулы кислоты подвергаются ионизации, давая ион водорода и ион хлора; из них ион водорода, как всегда, заряжен положительно, а ион хлора несет отрицательный заряд. Эти ионы водорода, происшедшие из кислоты, прибавляются к тем, которые имелись ранее и происходили за счет ионизации воды. В результате количество ионов водорода окажется выше количества гидроксильных ионов, которые могли произойти только за счет диссоциации воды. Допустим, с другой стороны, что мы желаем сделать жидкость щелочной, т. е. повысить в ней количество гидроксильных ионов. Для этого нам надо растворить в воде какую-либо щелочь, например, едкий натр. Он будет ионизировать, давая положительно заряженные ионы натрия и гидроксильные ионы, заряженные отрицательно. В результате в растворе мы сверх гидроксильных ионов, имевшихся вследствие диссоциации молекул воды, будем иметь избыток их, получившийся при ионизации едкой щелочи; наряду с этими гидроксильными ионами будет иметься и некоторое, весьма небольшое количество ионов водорода, образовавшихся при ионизации молекул воды.

Необходимо отдавать себе отчет в том, что всякий водный раствор, даже наиболее щелочной, всегда содержит небольшие количества водородных ионов. Водородные ионы мы встречаем не только в растворах кислот. Раствор является щелочным, если он содержит избыток гидроксильных ионов, и, поскольку мы имеем дело с водными растворами, в них неизбежно будут находиться и ионы водорода, так как вода, всегда, хотя и в малой степени, но ионизирует, давая водородные и гидроксильные ионы. Совершенно так же в растворе кислоты, даже самой сильной, всегда имеется некоторое, хотя бы очень незначительное, число гидроксильных ионов, образовавшихся вследствие все того же стремления воды к диссоциации.

Итак, кислый раствор никогда не может быть совсем свободным от гидроксильных ионов, а щелочной—свободным от ионов водорода. Но надо подчеркнуть, что ионизация воды представляет обратимую, равновесную реакцию, и поэтому если мы к такой равновесной системе прибавим один из продуктов реакции, например, водородные ионы, то реакция обнаружит стремление пойти в обратном направлении, и часть избыточных ионов водорода соединится с гидроксильными ионами, давая молекулы воды. Поэтому, хотя в кислом растворе, содержащем избыток водородных ионов, всегда имеется также некоторое количество ионов гидроксила, все же концентрация последних будет ниже, чем в чистой воде.

И наоборот, если мы к этой системе добавим избыток гидроксильных ионов, то часть этих избыточных гидроксилов соединится с теми водородными ионами, которые образовались из молекул воды, и окажется, что в щелочном растворе концентрация ионов водорода ниже, чем в чистой воде; все же некоторое количество этих водородных ионов в щелочном растворе всегда имеется.

Мы можем выразить эти отношения более точно, основываясь на том, что закон действующих масс приложим и к такой обратимой реакции, какой является процесс ионизации воды. Закон действующих масс гласит, что произведение концентраций всех реагирующих молекул находится в постоянном отношении к произведению концентраций всех образующихся продуктов. Это правило остается в силе для всех видов химического равновесия. Если мы приложим его к нашему частному случаю, то придем к заключению, что во всякой системе, где мы имеем водородные и гидроксильные ионы и молекулы воды, т. е. во всяком водном растворе, произведение концентрации водородных ионов на концентрацию гидроксильных ионов находится в некотором постоянном отношении к концентрации недиссоциированных молекул воды. Обозначим величину этого отношения через k. Концентрации всех компонентов мы выражаем, как обычно принято, в грамм-молях на литр, так что под концентрацией водородных ионов мы понимаем количество граммолекул ионов водорода в литре нашего раствора. Раствор с концентрацией, равной единице, будет в литре содержать одну граммолекулу ионов водорода (иначе говоря—один грамм ион); такой раствор мы называем «нормальным». Поскольку вес граммолекулы ионов водорода равен 1 г, нормальная концентрация ионов водорода будет составлять 1 г в литре. Нормальная концентрация гидроксильных ионов будет соответствовать содержанию 17 г ионов гидроксила в литре, ибо вес граммолекулы иона гидроксила равен 17, так как $O + H = 16 + 1 = 17$. Обозначим теперь концентрацию ионов водорода через $[H^+]$, концентрацию гидроксильных ионов $[OH^-]$ и концентрацию молекул воды через $[H_2O]$. Тогда, прилагая закон действующих масс к процессу ионизации воды, мы получаем уравнение:

$$[H^+] \times [OH^-] = k[H_2O].$$

Несколько ниже мы узнаем, что фактическое число молекул воды, находящихся в растворе в ионизированном состоянии, чрезвычайно мало. Это справедливо даже для чистой воды или нейтральных растворов, а в кислых или щелочных растворах ионизация воды еще более подавлена. Поэтому мы вправе принять, что каковы бы ни были изменения в степени ионизации воды, всегда абсолютное общее количество диссоциированных молекул воды ничтожно мало по сравнению с общим, колоссально большим числом недиссоциированных молекул ее; вследствие этого мы можем принять концентрацию недиссоциированных молекул воды практически постоянной. Обозначим величину этой практически постоянной концентрации через c и заменим этим обозначением

выражение $[H_2O]$ в нашем уравнении, оно тогда примет следующий вид:

$$[H^+] \times [OH^-] = kc.$$

Поскольку обе величины k и c являются постоянными, то и произведение их будет постоянной величиной, и мы можем вместо двух постоянных величин поставить одну, обозначив ее через K. Тогда

$$[H^+] \times [OH^-] = K.$$

Величина K этого уравнения носит название константы диссоциации воды. По поводу этого последнего уравнения надо сделать два важных замечания. Прежде всего оно приложимо ко всякой системе, содержащей гидроксильные и водородные ионы и молекулы воды, т. е. как к чистой воде, так и ко всяким водным растворам. В кислом растворе концентрация водородных ионов будет высока; но произведение из концентраций водородных и гидроксильных ионов должно оставаться постоянным, следовательно, концентрация гидроксильных ионов должна быть соответственно мала. С другой стороны, в щелочном растворе мы имеем высокую концентрацию гидроксильных ионов, а поскольку и здесь произведение концентраций ионов гидроксила и водорода должно оставаться постоянным, то соответственно пониженной окажется концентрация водородных ионов. В сущности то, что сейчас сформулировано, является лишь математическим выражением тех соотношений, которые мы разбирали несколько выше на примерах соляной кислоты и едкого натра. Во всяком растворе, кислом, нейтральном или щелочном, удвоение концентрации водородных ионов влечет за собой снижение вдвое концентрации ионов гидроксила, так как половина их соединится с частью избыточно прибавленных ионов водорода, образуя молекулы воды. Произведение же концентраций обоих видов ионов при этом сохранит свою постоянную величину.

Второй важный пункт приведенного выше уравнения—это величина константы K. Мы видели, что в чистой воде концентрация водородных ионов обязательно будет равна концентрации ионов гидроксила. Другими словами, это значит, что в чистой воде $[OH^-] = [H^+]$, так что наше уравнение можно переписать следующим образом:

$$[H^+]^2 = K.$$

Следовательно, K равно квадрату концентрации водородных (или гидроксильных) ионов. Это выражение справедливо для чистой воды или для нейтральных растворов. Если бы мы располагали средствами путем анализа установить содержание водородных ионов в чистой воде, то тем самым мы были бы в состоянии определить величину константы K. Такого рода методы анализа действительно удалось разработать. Посредством физико-химических измерений оказалось возможным определить концентрацию водородных ионов в чистой воде, причем было установлено, что концентрация составляет 1/10 000 000 грамм-ионов водорода в литре. Удобнее

выразить эту величину не в виде дроби, а через 10^{-7}, что и означает одну десятимиллионную, ибо $10^{-7}=\frac{1}{10^7}=\frac{1}{10\,000\,000}$. Следовательно, концентрация водородных ионов в чистой воде или в нейтральном растворе равна 10^{-7} норм. Отсюда вытекает, что величина K, константы диссоциации воды, равна $(10^{-7})^2$, т. е. равна 10^{-14}. Мы можем выразить это иначе, сказав, что в чистой воде произведение концентрации водородных ионов, на концентрацию гидроксильных ионов всегда равно 10^{-14}.

Концентрация водородных ионов в воде или в нейтральном растворе равна 10^{-7} норм. В слегка щелочной жидкости, какой является, например, поджелудочный сок, она составляет 10^{-8} норм., в сильнокислом желудочном соке (который содержит соляную кислоту почти в $^n/_{10}$ концентрации) мы имеем величину около 10^{-1} норм. Из этих примеров мы видим, что в биологических исследованиях нам приходится иметь дело с колебаниями концентрации водородных ионов, значительно превышающими те пределы, в которых оперирует химик-аналитик со своими титрованными растворами. Поэтому оказалось удобным обозначать концентрацию водородных ионов, указывая один только показатель степени 10 в выражении, представляющем эту концентрацию. Этот показатель степени, или, как его теперь называют, водородный показатель, принято обозначать символом pH. Следовательно, вместо того, чтобы сказать, например, что концентрация ионов водорода в данном растворе равна 10^{-7}, теперь просто говорят, что pH раствора равен 7. Тут нужно отметить, что знак минуса, стоящий у показателя, в этом новом обозначении отбрасывается. Иначе говоря, величина pH указывает нам ту отрицательную степень, в которую нужно возвести 10, чтобы получить фактическую концентрацию водородных ионов, выраженную в грамм-ионах на литр. Или, если пойти обратным путем, то мы скажем, что раствор, pH которого равен, например, 6, обладает концентрацией водородных ионов в 10^{-6} грамм-ионов в литре. Иначе выраженная эта концентрация равна 1/1 000 000 грамм-иона водорода в литре, т. е. она в 10 раз выше, чем у раствора с pH=7. Таким образом, мы видим, что с повышением кислотности величина pH уменьшается, причем повышению концентрации водородных ионов в 10 раз соответствует уменьшение величины pH на единицу: в растворе с pH=6 концентрация водородных ионов в 10 раз выше, чем в растворе с pH=7, в растворе с pH=5 она в 10 раз выше, чем в растворе с pH=6, и т. д.

Мы видели, что для нейтрального раствора pH равен 7. Растворы с более низким pH будут обладать кислой реакцией, с более высокими значениями pH—щелочной. Следовательно, если исходить из несколько иной отправной точки зрения, то мы скажем, что чем выше pH, тем выше щелочность раствора. Мы можем все сказанное резюмировать следующим образом:

В кислом растворе: $[H^+]>10^{-7}$ норм. $>[OH]$,

$pH<7$.

В нейтральном растворе: $[H^+] = 10^{-7}$ норм. $= [OH]$,

$$pH = 7.$$

В щелочном растворе: $[H^+] < 10^{-7}$ норм. $< [OH]$,

$$pH > 7.$$

Необходимо постоянно отдавать себе отчет в том, что шкала величин pH является логарифмической шкалой, так что, например, $pH = 6{,}5$ отнюдь не соответствует величине концентрации водородных ионов, лежащей точно посредине между концентрациями H-ионов, выражаемыми $pH = 7$ и $pH = 6$; в данном случае это будет величина, примерно в три раза большая, чем соответствующая $pH = 7$, и примерно в три раза меньшая, чем соответствующая $pH = 6$.

Мы познакомились, таким образом, с теми несколько своеобразными выражениями, которыми приходится пользоваться для более удобного обозначения концентраций водородных ионов в тех широких пределах, с какими приходится сталкиваться при изучении биологических объектов. Теперь мы можем перейти к более точному, математическому изучению ионных равновесий в растворах слабых кислот и щелочей.

Мы начнем с рассмотрения слабой кислоты, например, такой, как уксусная кислота, которая в растворе далеко не полностью ионизирована. В растворе такой кислоты мы будем иметь равновесие между ионами водорода, анионами кислоты (A^-) и оставшимися в недиссоциированном состоянии молекулами (HA):

$$H^+ + A^- \rightleftarrows HA.$$

Это равновесие будет подчиняться обычному закону действующих масс, так что, обозначая прямыми скобками величины, выражающие концентрации в граммолекулах, как мы это делали выше, мы можем написать

$$[H^+] \times [A^-] = k[HA]$$

или

$$[H^+] = \frac{k[HA]}{[A^-]}, \qquad (1)$$

где константа k представляет собою константу диссоциации данной кислоты. Это уравнение всегда остается в силе, независимо от того, каким образом отдельные компоненты приведены к встрече друг с другом, независимо и от того, появились ли ионы водорода только за счет диссоциации кислоты HA или образовались из какой-либо другой кислоты. Но мы условились выше обозначать концентрации ионов водорода через посредство символа pH. Взяв логарифмы на той и на другой стороне уравнения (1), мы получаем:

$$\log [H^+] = \log k + \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

или, меняя всюду знаки на обратные:

$$-\log[H^+] = -\log k - \log\frac{[HA]}{[A^-]} = -\log k + \log\frac{[A^-]}{[HA]},$$

т. е. $$pH = pK + \log\frac{[A^-]}{[HA]}, \qquad (2)$$

где pK представляет собою взятый с обратным знаком логарифм константы k, по аналогии с pH:

$$pK = -\log K.$$

Уравнение (2) имеет исключительно важное значение во всех случаях, когда дело идет о равновесии между кислотами и щелочами. Оно выражает, в какой мере степень ионизации кислоты падает при повышении концентрации ионов водорода в той среде, где кислота находится, или наоборот, как возрастает степень ионизации слабой кислоты по мере увеличения щелочности раствора. С другой стороны, это уравнение позволяет нам вычислить pH, если нам известно, какая часть кислоты находится в ионизированном состоянии. Эти взаимоотношения выступят особенно наглядно, если мы на основе уравнения (2) построим диаграмму, показывающую отношение ионизированной части кислоты к общему количеству ее,

$$\frac{[A^-]}{[HA] + [A^-]}$$

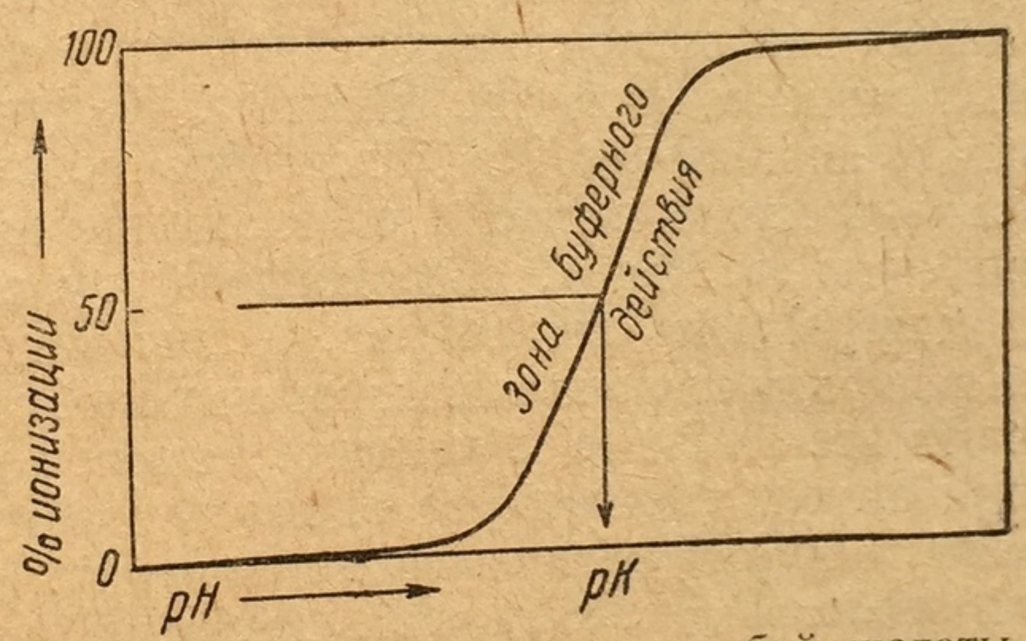


Рис. 21. Кривая ионизации слабой кислоты.

при различных значениях pH. Мы поступим так потому, что нам не так важно знать отношение ионизированной кислоты к неионизированной, как иметь представление о том, какая часть из всего отмеренного нами количества кислоты перейдет в ионизированную форму. Читателю нетрудно будет самому произвести этот несложный математический подсчет, исходя из величины

$$\frac{[A^-]}{[HA]},$$

непосредственно даваемой уравнением. Мы получим после такого подсчета кривую, подобную изображенной на рис. 21.

Самый простой способ изменить pH какого-либо кислого раствора — это прибавлять к нему возрастающие количества едкой щелочи. Если мы это проделаем, измерим после каждого прибавления pH раствора и затем нанесем полученные величины pH против количеств прибавленной щелочи, то мы получим **кривую нейтрализации** данной кислоты. Если мы взяли слабую, кислоту, т. е. такую, которая мало ионизирована сама, но дает

хорошо ионизирующие соли, то мы получим кривую, почти в точности совпадающую с приведенной выше. При этих условиях можно на протяжении большей части кривой пренебречь тем небольшим количеством анионов A^-, которые образуются за счет ионизации самой кислоты, так как это количество весьма мало по сравнению с массой тех же анионов, образующихся в результате ионизации натриевой соли, которая диссоциирует практически нацело. В силу последнего обстоятельства мы можем далее принять концентрацию аниона равной концентрации соли, а количество этой последней в свою очередь равным количеству прибавленной щелочи. Другими словами, при указанных условиях мы вправе написать [NaA] вместо [A^-], и наша формула приобретает такой вид:

$$pH = pK + \log \frac{[NaA]}{[HA]}.$$

Это уравнение говорит нам, что в растворе, содержащем слабую кислоту и ее натриевую соль, pH будет определяться величиной отношения этих двух компонентов; смесь будет тем щелочнее, чем больше относительное содержание соли, и наоборот, тем кислее, чем выше содержание кислоты. Получается такое впечатление, что соль определяет собой степень щелочности раствора, кислота — степень кислотности, а соотношение их определяет фактическую реакцию раствора, содержащего эту смесь.

Возвращаясь снова к рис. 21, мы видим, что первые прибавленные порции щелочи вызывают сильный сдвиг pH; дальнейшие вызывают все меньшее и меньшее изменение pH, пока, наконец, при прибавлении количества, эквивалентного половине взятой кислоты, изменение pH не достигнет минимума. Но когда окажется нейтрализованной бо̀льшая часть кислоты, то прибавление последующих количеств щелочи снова начнет вызывать очень большое смещение pH. Общая форма кривой показывает, что на протяжении средней части кривой смесь слабой кислоты и ее соли обнаруживает значительную степень устойчивости в отношении pH: добавление щелочи вызывает сравнительно малое защелочение, и наоборот, можно было бы прибавить еще кислоты, причем все-таки не произошло бы сильного сдвига реакции в кислую сторону. Такого рода смеси слабых кислот и их солей получили название буферных растворов. Они, подобно буферам железнодорожных вагонов, смягчают «толчки», вызываемые добавлением кислот или щелочей, и позволяют сохранить относительное постоянство концентрации водородных ионов даже при прибавлении сильных кислот или щелочей. Если к смеси уксусной кислоты и уксуснокислого натрия прибавить какой-либо сильной кислоты, то последняя разложит часть имеющегося ацетата (уксуснокислой соли) с выделением эквивалентного количества уксусной кислоты; последняя в свою очередь в присутствии избытка уксуснокислого натрия окажется слабо ионизированной и поэтому обусловит лишь незначительное увеличение концентрации водородных ионов в растворе. С другой стороны, если мы к той же смеси прибавим некоторое

количество сильной щелочи, то она нейтрализует часть имевшейся уксусной кислоты, но поскольку последняя в присутствии ацетата была лишь слабо ионизирована, то в результате получится лишь небольшое уменьшение количества водородных ионов.

То, что мы только что сказали относительно уксусной кислоты, в полной мере приложимо и к другим слабым кислотам, образующим хорошо ионизированные соли, так что можно, например, приготовить буферные растворы из молочной кислоты и молочнокислого натрия, из угольной кислоты и двууглекислого натрия и пр. Наконец, можно приготовить буферный раствор из однометаллического фосфорнокислого натрия NaH_2PO_4, который содержит способный к замещению водород и поэтому может рассматриваться как слабая кислота, и из двуметаллического фосфата Na_2HPO_4, который можно рассматривать как соответствующую соль. Мы увидим в дальнейшем, что бикарбонатная буферная система является главным буфером крови, тогда как фосфатная система играет первенствующую роль в тканях и в моче. Изменения концентрации водородных ионов во всех этих смесях протекают в точном соответствии с кривой рис. 21, с той только разницей, что меняется величина pK, т. е. смещается положение кривой в ту или иную сторону, но форма ее при этом остается неизменной. Легко видеть, что каждый раз кривая занимает такое положение, при котором величина pH, соответствующая половинной нейтрализации кислоты, численно равна pK данной кислоты. Это вытекает из того, что в точке половинной нейтрализации $\frac{[A^-]}{[HA]}=1$, и, следовательно, логарифм этой величины равен нулю.

Необходимо отличать это буферное действие от простой нейтрализации. Если мы возьмем раствор едкого натра и станем его нейтрализовать кислотой, то можем дойти до получения нейтрального раствора. Но при этом будет иметь место чрезвычайно сильное изменение pH раствора, примерно от pH=10 до pH=7. Если же мы возьмем буферную смесь, то мы могли бы начать с раствора, имеющего pH=8, и при прибавлении того же количества кислоты, что и в предыдущем случае, получить в результате раствор, pH которого все еще был бы выше 7.

Буферные растворы очень полезны во многих отношениях. Прежде всего они находят очень важное применение в таких опытах, когда необходимо на протяжении той или иной реакции или процесса сохранять концентрацию ионов водорода возможно более постоянной; таков, например, случай, когда необходимо предохранить фермент, действие которого сопровождается образованием кислот, от разрушающего или инактивирующего влияния последних. Выше указывалось, что фактически величина pH буферного раствора определяется лишь соотношением его компонентов; из этого вытекает, что в определенных пределах можно разводить буферный раствор более или менее значительными количествами воды или какого-либо нейтрального раствора и pH его при этом останется неизмененным; прибавляя, например, 1 мл

раствора фермента к 10 мл буферного раствора, мы вправе считать, что pH полученной смеси будет практически тем же, что и у исходного раствора буфера.

Буферные растворы широко применяются, далее, в качестве стандартов при определении концентрации водородных ионов. На первый взгляд казалось бы, что для этой цели проще пользоваться соответственно разведенными растворами кислот или щелочей. Однако легко убедиться в том, что это практически невыполнимо. Для получения, например, раствора с pH=6 надо было бы взять раствор сильной кислоты нормальностью в одну миллионную, а для получения, например, раствора с pH=8—раствор щелочи одной миллионной нормальности. Но такие растворы, если даже при тщательном приготовлении и имели бы требуемую концентрацию водородных ионов, отличались бы крайней неустойчивостью величины своего pH. Малейшие следы углекислоты, поглощенные щелочью из воздуха при отмеривании пипеткой, или ничтожные следы щелочи, перешедшие в раствор кислоты из стенок склянки, нейтрализовали бы такие относительно значительные количества первоначально содержавшихся в наших растворах водородных или гидроксильных ионов, что pH их коренным образом изменился бы на протяжении уже нескольких минут. Поэтому для приготовления стойких растворов, сохраняющих свой pH неизменным при хранении в течение многих месяцев, пользуются описанными выше буферными смесями. Для изготовления их берутся такие вещества, которые легко могут быть получены в чистом состоянии и из которых удобно готовить растворы строго определенных концентраций. Величины pH для различных смесей, приготовленных из таких растворов, должны быть установлены путем прямого электрометрического измерения; для этого определяют электродвижущую силу, возникающую на насыщенном водородом электроде, погруженном в исследуемую жидкость. Соответствующие измерения были произведены для большого количества буферных растворов, и полученные данные, сведенные в таблицы, могут быть найдены в руководствах и справочниках. Таким образом, в настоящее время легко приготовить буферный раствор с любой нужной концентрацией водородных ионов.

Такого рода стандартными растворами широко пользуются для определения концентрации водородных ионов в различных подлежащих исследованию жидкостях, применяя для этого специальные индикаторы. Для того, чтобы разъяснить теоретические основы этого метода, удобнее всего принять, что индикатор представляет собой слабую кислоту, анион которой обладает другой окраской, чем неионизированная молекула ее. Находясь в растворах с различной концентрацией водородных ионов, такой индикатор будет обладать неодинаковой степенью ионизации, согласно обычному поведению слабых кислот в таких условиях. В более кислых растворах он будет лишь очень слабо ионизирован и, следовательно, будет обладать окраской, присущей его недиссоциированным молекулам. На протяжении некоторого диапазона

концентрации водородных ионов степень ионизации будет быстро возрастать при незначительных изменениях pH, и, наконец, в щелочной среде индикатор будет целиком находиться в ионизированном состоянии, обнаруживая окраску, свойственную его аниону. Из сказанного ясно, что для каждого данного индикатора существует лишь сравнительно узкий предел концентраций водородных ионов, в котором изменения окраски индикатора достаточно отчетливы для того, чтобы практически было возможно воспользоваться ими для определения величины pH. Эта используемая зона—она называется «зоной перехода» индикатора,—может лежать очень далеко от нейтральной точки. Она будет, как правило, различна для разных индикаторов, и положение ее определяется относительной силой индикатора как кислоты, т. е. величиной его p*K*. Учитывая все сказанное, нетрудно наметить путь практического применения индикаторов для определения концентрации водородных ионов. Прежде всего следует выбрать такой индикатор, который в исследуемой жидкости обнаруживает переходную, легко изменяющуюся в зависимости от pH окраску. После этого прибавляют такое же количество индикатора к серии пробирок, содержащих буферные растворы тех значений pH, в пределах которых лежит зона перехода индикатора. Остается лишь установить, в какой из пробирок окраска индикатора соответствует той, которую он принял в испытуемой жидкости, и зная pH буферного раствора в этой пробирке, мы тем самым устанавливаем и pH исследуемой жидкости. На практике, особенно если испытуемая жидкость сама обладает известной окраской (как, например, моча), сравнение окрасок производят, пользуясь так называемым компаратором, который устроен таким образом, что позади трубки, в которой находится стандартный раствор с индикатором, можно поместить пробирку с испытуемой жидкостью. Тогда окраски самой жидкости и индикатора в стандартном растворе суммируются, и можно сравнивать оттенки с той окраской, которая получается от суммирования обеих окрасок в одной пробирке в опыте с исследуемой жидкостью.

Описанный метод определения pH при помощи стандартных буферных растворов легко выполним в хорошо обставленной лаборатории, где могут быть приготовлены и соответствующим образом храниться необходимые стандартные растворы. Но в более скромных небольших лабораториях, в отдаленных местностях или в пути этот метод оказывается слишком громоздким. Поэтому были разработаны другие методы, основывающиеся на тех же принципах теории индикаторов, которые были изложены выше, но не требующие применения буферных растворов. Основным в этих методах является пользование индикаторами, для которых величины p*K* точно раз навсегда установлены специальными лабораторными измерениями. В методе, разработанном Михаэлисом, применяются одноцветные индикаторы типа фенолфталеина и нитрофенолов, которые бесцветны в недиссоциированной форме и окрашены в ионизированном состоянии. К отмеренному

объему испытуемого раствора прибавляют определенное количество соответствующего индикатора; при этом получается окраска той или иной интенсивности, соответственно тому, какая часть взятого количества индикатора находится в ионизированном состоянии, т. е. сколько образовалось окрашенного аниона. Это количество устанавливают, добавляя из бюретки раствор индикатора к разведенному раствору щелочи, в котором индикатор будет находиться целиком в диссоциированном виде; нет необходимости, чтобы этот щелочной раствор был какого-либо точного титра. Добавляют индикатор до тех пор, пока окраска получающегося раствора не сравняется с той, которую мы имеем в испытуемой среде. Для этого придется затратить меньше индикатора, чем его прибавлено в пробирку с испытуемым раствором, и затраченное количество будет служить мерой концентрации окрашенного аниона в опытной пробирке. Зная, сколько индикатора было в нее прибавлено, мы по разности находим количество индикатора, оставшегося недиссоциированным. Тогда, поскольку нам известна величина p*K* примененного индикатора, мы имеем все необходимые данные для того, чтобы на основании уравнения (2) вычислить величину pH исследуемой жидкости.

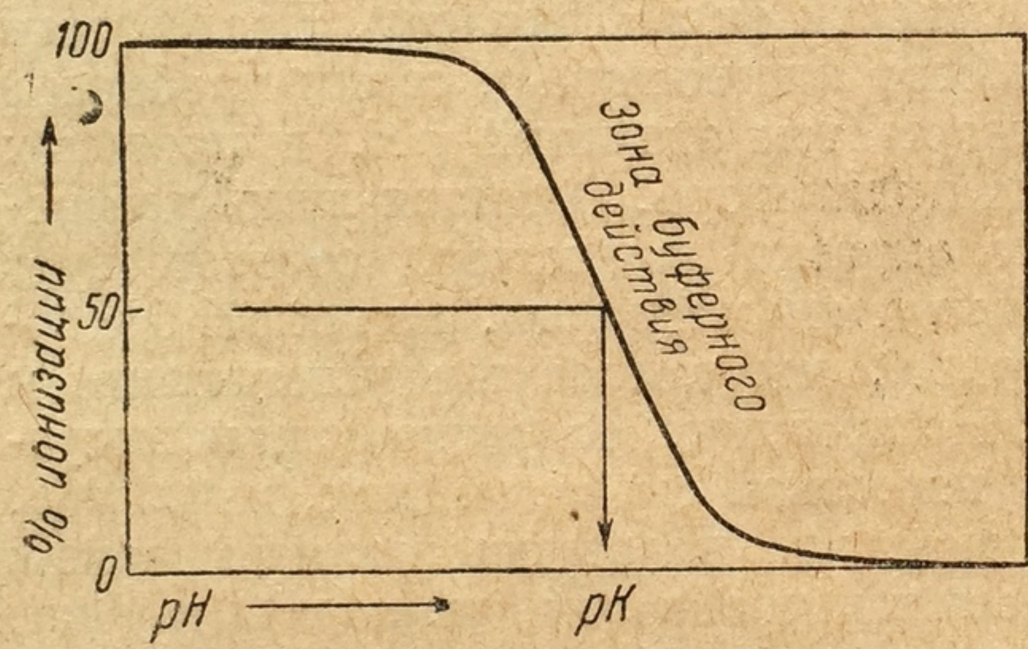


Рис. 22. Кривая ионизации слабого основания.

Недавно Джиллеспи разработал новый метод, в котором тоже используются обычно применяемые двуцветные индикаторы. Для этого поступают следующим образом. Сравнивают окраску испытуемой жидкости после прибавления к ней определенного количества индикатора с окрасками «оптических смесей», полученных путем накладывания друг на друга (при рассматривании двух поставленных друг за другом пробирок) окрасок ионизированной и неионизированной формы того же индикатора: то же самое количество индикатора, какое прибавлено в испытуемый раствор, распределяют в разных соотношениях между двумя пробирками, в одной из которых имеется кислота, а в другой—слабая щелочь. Соотношение количеств индикатора, распределенных между кислой и щелочной пробирками в той паре, которая даст оптическую смесь одинакового с испытуемым раствором оттенка, будет соответствовать соотношению ионизированной и неионизированной формы его в опытной пробирке. Таким же образом мы узнаем последний член в уравнении (2), и, зная p*K* индикатора, мы находим значение pH исследуемой жидкости как сумму этих двух величин.

Мы рассмотрели теорию ионизации слабых кислот и ее при-

ложения. Совершенно аналогично можно рассмотреть ионизацию слабых оснований, и мы получим при этом совершенно те же уравнения. Разница будет лишь в том, что основание будет ионизировано в кислой среде, а не в щелочной, так что его кривая ионизации имеет форму, противоположную кривой для слабой кислоты (рис. 22).

На практике реже приходится сталкиваться с ионизацией слабых оснований, чем с диссоциацией слабых кислот. Но все же имеются некоторые индикаторы (например, метилрот), которые обладают основным характером и ионизация которых протекает соответственно только что приведенной кривой. Но нам эта кривая понадобится также и для того, чтобы разобраться в природе ионизации амфотерных соединений

Изучение амфотерных веществ представляет особый интерес для физиологии и биохимии, так как к числу этих веществ принадлежат аминокислоты и белки в силу наличия у них как кислотных групп—COOH, так и основных аминогрупп—NH_2. Мы в самом начале книги указывали, что амфотерное вещество в кислом растворе ведет себя как основание и при прибавлении к такому раствору понижает его концентрацию водородных ионов, а в щелочном растворе проявляет свойства кислоты и при прибавлении уменьшает степень его щелочности. Мы вправе считать, что такой амфотерный электролит, или, как его иначе называют, амфолит, в кислом растворе обнаружит кривую ионизации, свойственную слабому основанию, а по мере перехода к щелочной среде при некоторой определенной концентрации водородных ионов начнет вести себя противоположным образом и даст кривую диссоциации слабой кислоты. Фактическая кривая ионизации амфолита будет складываться из этих двух частей и будет иметь вид, представленный на рис. 23.

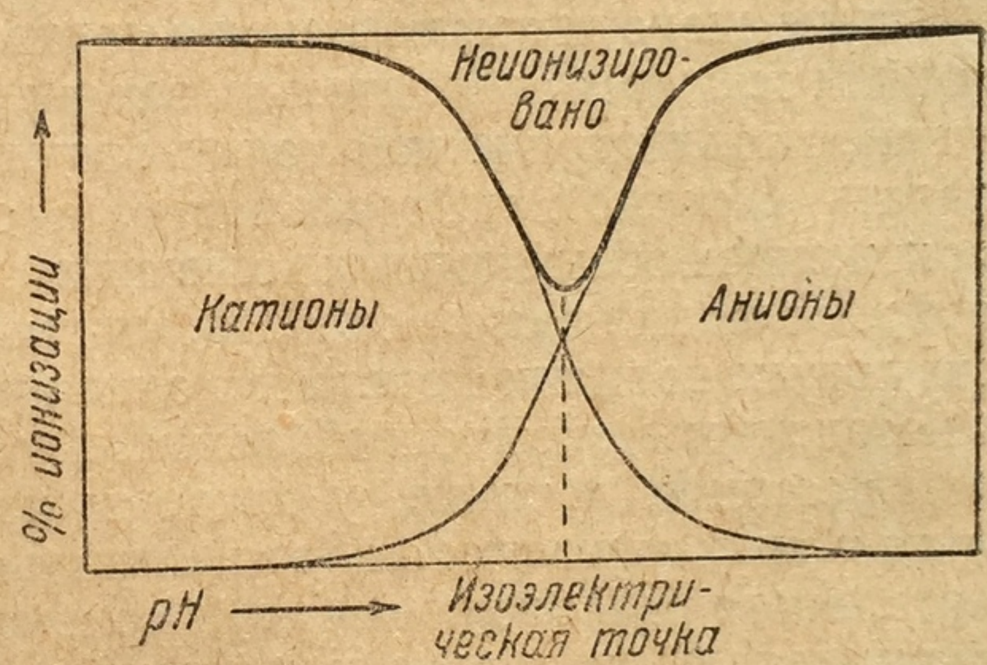


Рис. 23. Кривая ионизации амфолита (жирная линия) складывается из частей соответствующих кривых кислотной и основной ионизации (тонкие линии).

Из хода этой кривой видно, что на одной ветви ее амфолит будет образовывать анионы, на другой—катионы. Здесь нам необходимо особенно подчеркнуть, что имеется некоторая определенная концентрация водородных ионов, при которой количество амфолита, ионизированного как в той, так и в другой форме, будет наименьшим; другими словами, та часть амфолита, которая находится в недиссоциированном состоянии, достигает здесь максимума. Та концентрация водородных ионов, при которой это состояние достигается, носит название и з о э л е к т р и ч е с к о й т о ч к и

амфолита. Поскольку обе ветви кривой ионизации от изоэлектрической точки расходятся симметрически, мы должны заключить, что та часть электролита, которая в этой точке оказывается ионизированной, должна давать одинаковые количества как аниона, так и катиона и общий заряд амфолита в целом будет равен нулю. Можно это же выразить другим образом: при изоэлектрической точке молекулы амфолита отдают одинаковое количество как положительно заряженных водородных ионов, так и отрицательных ионов гидроксила; соответственно получается одинаковое число ионов амфолита, несущих положительные и несущих отрицательные заряды, и общий эффективный заряд их будет равен нулю. Такие ионы получили название цвиттер-ионов (от немецкого Zwitter—двуполый), и, согласно современным воззрениям, многие амфолиты в их изоэлектрических точках находятся целиком в таком состоянии. Действие кислоты в таком случае сводится к тому, что она подавляет кислотную диссоциацию, оставляя амфолит в виде положительно заряженных катионов, а действие щелочи заключается в подавлении основной диссоциации, причем остаются отрицательно заряженные анионы амфолита. Положение изоэлектрической точки отнюдь не будет обязательно совпадать с точкой нейтральности, а определяется относительным положением обеих кривых ионизации амфолита—кислотной и основной; последние в свою очередь, как мы видели, зависят от соответствующих величин констант ионизации. Так, известны амфолиты с изоэлектрической точкой, лежащей в кислую сторону от нейтральной реакции, и такие, у которых изоэлектрическая точка сдвинута в щелочную сторону от нейтральной реакции. Далее, от относительного расположения двух кривых ионизациии будет зависеть, окажется ли в изоэлектрической точке только часть амфолита в неионизированном состоянии, как это представлено на рис. 23, или же он весь будет в виде недиссоциированных молекул; наконец, может оказаться, что существует не одна определенная точка, а более или менее значительный участок концентраций водородных ионов, в пределах которого не будет обнаруживаться преобладания ни положительных, ни отрицательных ионов.

Особенно важна изложенная теория амфолитов в ее приложении к белкам. Белки, вследствие огромных размеров их молекул, всегда образуют коллоидальные растворы, и одним из факторов, прочно удерживающих белки в растворе, является наличие у их коллоидных частиц одноименных зарядов; обусловленное этим взаимное отталкивание частиц препятствует им собираться в более крупные агрегаты и выпадать из раствора. Но если привести раствор белка к pH, соответствующему его изоэлектрической точке, то стабилизирующее действие электрических зарядов исчезает, и естественно ожидать, что в этих условиях белок обнаруживает минимум устойчивости. У некоторых белков это проявляется в том, что они в изоэлектрической точке оказываются совершенно нерастворимыми. Примером этого могут служить денатурированные белки, образующиеся при кипячении альбуминов и

глобулинов: они выпадают в изоэлектрической точке, при pH=4,5, но оказываются растворимыми в более кислых или более щелочных растворах. Поэтому, когда хотят удалить альбумины и глобулины путем тепловой коагуляции, то приводят раствор к указанной реакции. Сходные свойства обнаруживает казеин, с той только разницей, что у него наблюдается довольно широкая изоэлектрическая зона. Поэтому казеин, изоэлектрическая точка которого лежит при pH=4,7, хорошо растворим в щелочных средах и осаждается из растворов, как только будет достигнута слабокислая реакция (примерно 0,3%, или еще более слабая уксусная кислота), но снова переходит в раствор лишь при сильном подкислении 30% уксусной или какой-нибудь минеральной кислотой. Таким образом, здесь область нерастворимости распространяется на сравнительно широкий участок концентраций водородных ионов. У других белков в изоэлектрической точке выпадения не наступает, но тем не менее устойчивость белка здесь оказывается сильно пониженной, и при соответствующем pH такой белок легче всего выпадает под действием тех или иных осадителей. Так, например, нативный некипяченый альбумин не выпадает, если его раствор привести к изоэлектрической точке, но при этой реакции, чтобы вызвать осаждение, требуются более низкие концентрации сернокислого аммония, чем при более кислой или щелочной среде. Точно так же и желатина обнаруживает большую устойчивость в очень широких пределах pH, но при изоэлектрической точке осаждается спиртом легче, чем при какой-либо иной реакции.

От заряда белковой частицы зависит не только растворимость белка; изоэлектрическая точка оказывается тем пунктом, в котором резко меняется целый ряд свойств белка. Так, в изоэлектрической точке желатина обнаруживает наименьшее набухание вследствие того, что здесь имеется меньше всего заряженных ионов, могущих вызывать осмотическое давление. В изоэлектрической точке всего ниже вязкость раствора желатины, потому что минимальна концентрация заряженных ионов, притягивающих воду и тем понижающих подвижность жидкости. Наконец, при изоэлектрической точке наиболее выражена наклонность желатины образовывать студень, потому что здесь меньше всего имеется взаимно отталкивающихся ионов и наиболее благоприятны условия для агрегации белковых частиц в сложную сетчатую структуру, которая обусловливает эластичность, податливость и прочность геля. Мы не можем детальнее остановиться на всех этих весьма интересных явлениях и должны ограничиться лишь кратким упоминанием о них. Если мы учтем, как тесно связаны свойства белка со степенью его ионизации, зависящей в свою очередь от концентрации водородных ионов той среды, в которой белок находится, то нам станет понятной та исключительная чувствительность живых тканей, построенных преимущественно именно из белка, к малейшим изменениям концентрации водородных ионов в окружающей среде. Как правило, pH тканевого сока несколько выше, чем pH, соответствующий изоэлектрической точке тканевых белков, так

что создается впечатление, что для проявления белками их участия в процессах жизнедеятельности они должны преимущественно находиться в ионизированном состоянии, как кислоты, т. е. в виде несущих отрицательный заряд анионов.

Теория ионизации амфолитов получила, далее, приложение в области учения о ферментах. Повидимому, многие ферменты представляют собой амфотерные вещества, ионизирующие в растворах с различной концентрацией водородных ионов так, как это было описано выше. Есть основания полагать, что анионы, катионы и недиссоцированные молекулы ферментов обладают весьма различной активностью в смысле ускорения катализируемой ими реакции; этим обстоятельством можно объяснить, по крайней мере в некоторых случаях, отмечавшуюся нами в свое время чрезвычайно сильную зависимость действия ферментов от концентрации водородных ионов. Если взять в качестве примера пепсин, то здесь наибольшей активностью, повидимому, обладают катионы, поскольку пепсин действует лишь при кислой реакции; у трипсина активной формой надо считать анионы, так как он действует в щелочной среде; наконец, у инвертазы активность приходится приписать недиссоциированным молекулам, потому что она проявляет свое действие всего лучше вблизи нейтральной точки. Такая трактовка дает не только качественное истолкование, но и достаточно хорошее количественное объяснение наблюдаемой зависимости действия ферментов от активной реакции среды.

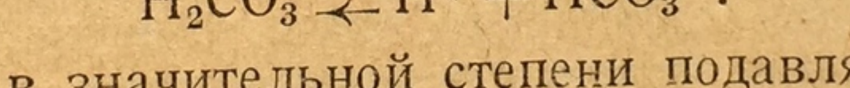
При большом разнообразии ферментов и их свойств не приходиться, однако удивляться тому, что изложенная теория не является универсальной и в некоторых случаях оказывается неприложимой.

Мы закончим наш краткий обзор исключительно важной роли водородных ионов при биологических процессах изложением вопроса о кислотно-щелочном равновесии в крови. Из того, что было сказано выше, с очевидностью вытекает первостепенная важность сохранения постоянного и наиболее благоприятного содержания водородных ионов в той жидкой среде, которая циркулирует по сосудам тела и омывает все клетки и ткани. Но ясно также, что это постоянство концентрации водородных ионов может поддерживаться только при наличии весьма совершенных приспособлений, так как главный процесс обмена—окисление—ведет к образованию кислых продуктов, главным из которых является угольная кислота. Поэтому-то, несмотря на существование бескислородных кислот, а также окислов, не обладающих кислотными свойствами, все же название «кислород» вполне обосновано. Перенос кислот всегда представляет известные трудности, а перед организмом стоит задача—обеспечить транспорт всего образующегося количества углекислоты от тканей к легким таким образом, чтобы не допустить сколько-нибудь значительных изменений в нормальной реакции крови. При нормальных условиях кровь обладает слабощелочной реакцией; ее pH лежит около 7,4. Мы отмечали выше настоятельную необходимость сохранения этой реакции постоянной в очень

узких пределах; теперь мы можем это несколько уточнить, приведя цифровые данные о допустимых пределах сдвигов реакций: уменьшение величины pH всего на 0,4, до pH = 7, 0, влечет за собой состояние комы, а такой же сдвиг этой величины в щелочную сторону до pH = 7,8 вызывает картину тетании.

Читатель, произведя соответствующий подсчет, сможет убедиться, что разница между этими крайними пределами меньше, чем $^1/_{1000\,000}$ г водородных ионов в литре крови. Чтобы сохранить такое поразительное постоянство, организм располагает рядом приспособлений. Малейшее увеличение концентрации водородных ионов в крови сопровождается усилением дыхания, в результате чего получается более интенсивное удаление углекислоты из крови, и последняя снова приобретает исходную реакцию. С этой точки зрения, дыхательный центр можно рассматривать как орган, задачей которого является сохранение постоянства активной реакции крови. С другой стороны, почки оказываются способными выделять мочу то более, то менее кислую, соответственно концентрации ионов водорода в крови. Но и тот, и другой механизм были бы недостаточны, если бы сама кровь не располагала чрезвычайно высокой буферной силой.

Мы в свое время указывали, что угольная кислота, поступающая в кровь из тканей, вступает в конкуренцию с гемоглобином за овладение имеющимся в крови запасом щелочи (гемоглобин, находясь в щелочной зоне от своего изоэлектрического пункта, тоже функционирует как слабая кислота). В результате значительная часть углекислоты превращается в бикарбонат, и лишь незначительная доля остается свободной. Эта свободная углекислота стремится ионизировать, распадаясь на ионы водорода и бикарбоната:



$$H_2CO_3 \rightleftarrows H^+ + HCO_3^-.$$

Эта ионизация в значительной степени подавляется обильным содержанием бикарбонатных ионов, образующихся в результате диссоциации щелочных двууглекислых солей (бикарбонатов). Для упрощения мы отвлечемся от того факта, что часть щелочи крови является калием, и будем считать, что имеем дело только с натрием. Нетрудно видеть, что мы имеем перед собою типичный пример буферной смеси из слабой кислоты (угольной) и ее соли. Следовательно, мы можем снова воспользоваться выведенным выше уравнением (3). Подставляя в него выражения для углекислоты и бикарбоната, мы имеем:

$$pH = pK + \log \frac{[NaHCO_3]}{[H_2CO_3]}. \qquad (4)$$

Для того, чтобы получить представление о степени подавления ионизации угольной кислоты ионами бикарбоната, можно привести следующие данные. Если привести чистую воду в соприкосновение с атмосферой, в которой парциальное давление углекислоты равно 40 мм Hg (это соответствует нормальному напряжению ее в альвеолярном воздухе), то полученный раствор углекислоты будет иметь

pH около 4,7. Если же мы, с другой стороны, подвергнем такой же обработке пробу крови, то окажется, что ее pH лежит около 7,4. Другими словами, здесь концентрация водородных ионов составляет всего около $^1/_{500}$ по сравнению с той, которая получилась бы, если бы в крови не было ее мощной буферной системы.

Разумеется, если в кровь поступают кислоты, более сильные, чем угольная,—например, молочная кислота при напряженной мышечной работе, или β-оксимасляная при диабете,—то эти кислоты будут разлагать часть бикарбонатов, освобождая эквивалентное количество значительно более слабой угольной кислоты. При этом в крови неизбежно изменится в сторону уменьшения величина отношения $\frac{\text{бикарбонат}}{\text{углекислота}}$ и, как вытекает из уравнения (4), соответственно упадает pH крови; однако это изменение будет несравненно меньше того, которое получилось бы, если бы поступающая в кровь кислота не встретила здесь буферного действия бикарбонатов.

Во всем нашем предыдущем изложении мы исходили из предположения, что вся связанная углекислота крови находится в виде двууглекислого натрия (или калия); до самого недавнего времени такой взгляд являлся общепринятым. Наиболее веским доказательством в пользу его являлось то обстоятельство, что уравнение (4) оказывается в полной мере приложимым к крови, т. е. если мы проанализируем пробу крови, установим в ней содержание свободной и связанной угольной кислоты и, допустив, что связанная CO_2 действительно находится в виде бикарбоната, подставим полученные величины в наше уравнение, то вычисленная на основании его величина pH чрезвычайно близко совпадет с той, которую мы находим на самом деле путем прямого измерения. В уравнении (4) для величины p*K* взято, конечно, то значение, которое приложимо для простых водных растворов углекислоты. Но в последнее время было обнаружено, что если те же соображения приложить к раствору бикарбоната, содержащему значительные количества гемоглобина (подобно тому, что мы имеем в красном кровяном тельце), то, чтобы вычисленные и найденные величины pH смеси совпали, приходится для величины p*K* взять значительно более низкое значение, чем найденное просто в опытах с углекислотой. Другими словами величина отношения $\frac{\text{бикарбонат}}{\text{углекислота}}$ оказывается слишком большой, чтобы удовлетворить уравнению (4). Это указывало на то, что в присутствии гемоглобина эффективная концентрация, или, как говорят физико-химики, «активность», ионов бикарбоната в растворе оказывается ниже, чем та, которую мы устанавливаем аналитически, и, следовательно, часть связанной углекислоты оказывается не в виде бикарбоната, а каким-то образом непосредственно соединенной с гемоглобином. Путь, которым пришли к этому заключению, очень интересен. Дело началось с открытия, что если подвергнуть кровь действию вакуума, то часть углекислоты выделяется из нее почти мгновенно, между

тем как остальное количество отдается лишь гораздо медленнее. Это привело к мысли, что угольный ангидрид связан двояким образом. Далее было обнаружено, что в крови имеется фермент, чрезвычайно сильно ускоряющий столь простую, казалось бы, реакцию, какой является обратимое разложение H_2CO_3 на CO_2 и H_2O. Фермент этот получил наименование «угольной ангидразы». Процесс выделения углекислоты из бикарбонатов протекает таким образом: сперва ион бикарбоната HCO_3' должен соединиться с ионом водорода H^+ образуя недиссоциированную молекулу угольной кислоты H_2CO_3, а эти молекулы уже в свою очередь распадаются— медленно в отсутствии фермента и весьма быстро при его наличии,—давая CO_2 и H_2O:

$$HCO_3^- + H^+ \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow H_2O + CO_2.$$

Этот фермент может быть отравлен и лишен своего действия, если к крови прибавить цианистый калий. В этом случае бо́льшая часть углекислоты крови отдается в вакууме очень медленно; очевидно, эта часть находилась в виде бикарбонатов, которые без участия ферментов разлагаются весьма медленно. Но некоторая часть углекислоты и в этом случае, несмотря на присутствие цианида, выделяется чрезвычайно быстро. Эта быстро выделяющаяся часть углекислоты, очевидно, находится не в форме бикарбоната, и предполагается, что она связана с аминогруппой глобина в гемоглобине, образуя карбаминовое соединение, т. е. продукт замещения карбаминовой кислоты $NH_2 \cdot COOH$.

Это можно представить следующими формулами:

$$\underset{\text{Аммиак} + CO_2}{\overset{CO_2 \downarrow}{NH_2 \cdot H}} \longrightarrow \underset{\text{Карбаминовая кислота}}{NH_2 \cdot COOH}$$

$$\underset{\text{Гемоглобин} + CO_2}{\overset{CO_2 \downarrow}{Hb \cdot NH \cdot H}} \longrightarrow \underset{\text{Карбаминогемоглобин}}{HbNH \cdot COOH}$$

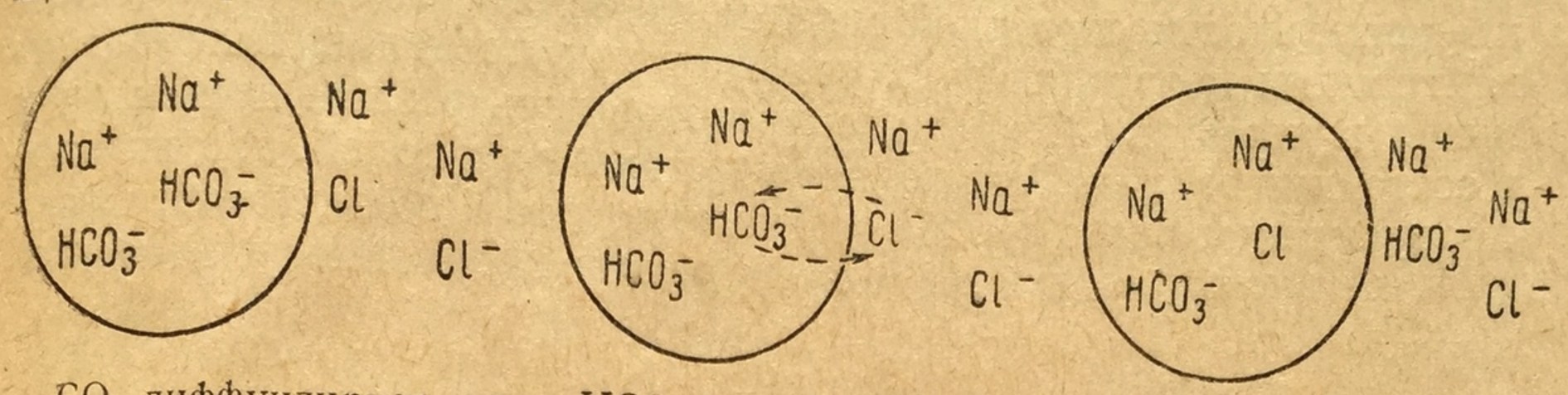
Количество этого карбаминогемоглобина невелико по сравнению с общим количеством углекислоты, содержащейся в крови, но составляет существенную долю того количества угольной кислоты, которое фактически переносится кровью от тканей к легким и, следовательно, в общем балансе может играть немаловажную роль.

В связи с вопросом о переносе углекислоты кровью возникают еще некоторые трудности, в которых необходимо разобраться. Дело в том, что гемоглобин сосредоточен исключительно в красных кровяных тельцах и, следовательно, лишь косвенным путем может влиять на ионный состав плазмы. Долгое время представлялось затруднительным объяснить то явление, что концентрация ионов хлора в плазме примерно в два раза выше, чем в кровяных

тельцах, между тем как известно, что ионы хлора легко проникают через клеточные мембраны. Положение стало еще более непонятным, когда Гамбургер обнаружил, что при удалении из крови угольной кислоты часть ионов хлора «перемещается» из телец в плазму, т. е. что они переходят из места, где их концентрация ниже, к месту, где и раньше концентрация их была более высокой, в прямом противоречии с тем, что следовало ожидать на основании обычных законов диффузии. Можно представить это таким образом, что ионы хлора преодолевают некоторый подъем—в смысле концентрации,—вместо того, чтобы спускаться вниз. Это объясняется следующим. В настоящее время известно, что калий и натрий неспособны проникать через оболочку эритроцитов; в то же время ионы хлора и бикарбоната, сами по себе способные к проникновению, могут диффундировать лишь при одновременном проникновении их противоположно заряженных партнеров—ионов калия и натрия. Из этого вытекает, как говорилось уже раньше, что равновесные концентрации различных ионов по обе стороны мембраны, в том случае если часть из них неспособна проходить через нее, будут существенно иными, чем при свободном проникновении всех находящихся в растворе ионов. Влияние иона, неспособного к диффузии, на распределение прочих диффундирующих ионов было впервые изучено Доннаном, и достигаемое в этих условиях равновесие известно под названием «доннановского равновесия».

При описанном выше сдвиге хлоридов между плазмой и тельцами явление, очевидно, заключается в следующем. Угольная кислота проникает в эритроциты и реагирует здесь с калийной или натриевой солью гемоглобина, образуя щелочной бикарбонат. Отрицательно заряженные ионы бикарбоната, естественно, стремятся диффундировать из телец, где их концентрация высока, наружу, где концентрация их в первое время низка; при этом положительно заряженные ионы калия и натрия, неспособные диффундировать через оболочку эритроцита, должны были бы остаться внутри клетки. Но такого рода изолированная диффузия одних только анионов бикарбоната оказывается невозможной, так как она нарушила бы условия электрической нейтральности и вызвала бы на границе между тельцем и плазмой возникновение сильного электрического поля, препятствующего дальнейшей диффузии бикарбонатных ионов. Однако это же самое электрическое поле обусловливает движение отрицательно заряженных ионов хлора из плазмы внутрь эритроцита, благодаря чему электронейтральность восстанавливается и создается возможность для дальнейшего диффундирования ионов бикарбоната наружу. Таким образом, оказывается, что значительная часть ионов бикарбоната, образовавшаяся внутри эритроцитов, диффундирует из них наружу, заменяясь эквивалентным количеством ионов хлора, поступающих в кровяное тельце из плазмы. Вначале плазма содержит хлористый натрий, а затем в результате поступления в кровь угольной кислоты в ней появляется двууглекислый натрий; получается впечатление, что хлористый натрий как бы подвергся прямому разложению

под влиянием слабой угольной кислоты, что химик едва ли склонен будет допустить. Описанный процесс можно пояснить следующей диаграммой:



CO_2 диффундирует из плазмы в кровяное тельце и здесь образует $NaHCO_3$, отнимая натрий от гемоглобина по уравнению: $NaHb + H_2CO_3 \rightleftarrows HHb + Na^+ + HCO_3^-$

HCO_3^- стремится диффундировать из эритроцита наружу; это осуществляется путем обмена с ионами хлора Cl^-

Теперь плазма обогатилась ионами HCO_3^-, а кровяные тельца ионами Cl^-

Само собой разумеется, что когда угольный ангидрид удаляется из плазмы, то наступают обратные изменения. Следует упомянуть, что на самом деле, вследствие ряда вторичных моментов, как, например, ионизация самого гемоглобина, проникновение некоторого количества воды из плазмы в эритроцит и т. д., количества обменивающихся местами ионов хлора и бикарбоната не так точно соответствуют друг другу, как это представлено в нашем изложении. Но мы не можем вдаваться в эти детали, так как это увлекло бы нас слишком далеко.

Функции и значение электролитов

В предыдущем разделе мы познакомились с тем, какое важное значение имеют ионы водорода в качестве фактора, определяющего степень ионизации белков и тем самым направляющего характер их превращений в процессах обмена веществ. Неудивительно, что при такой выдающейся роли концентрация ионов водорода является в настоящее время объектом бесчисленных исследований биологического характера. Но как бы мощно ни было влияние ионов водорода, не следует думать, что им одним принадлежит функция создания заряда белков и через это—управление физиологической активностью тканей. Белки способны путем адсорбции давать соединения и с другими ионами, в результате чего существенно меняются их свойства; поэтому не удивительно, что проявления жизнедеятельности существенным образом зависят от ряда ионов, в первую очередь от ионов металлов натрия, калия и кальция, находящихся в омывающих ткани жидкостях.

Это первостепенной важности открытие было сделано Рингером в 1880 году в опытах, имевших целью выяснить роль отдельных составных частей крови для поддержания ритмических сокращений желудочка сердца. Пропуская через сердце лягушки растворы различного состава, Рингер легко мог убедиться, что если белки

и прочие органические компоненты крови спокойно могли быть исключены и отсутствие их не отзывалось заметным образом на деятельности сердечной мышцы, то всякое отклонение в концентрациях неорганических солей от тех пределов, которые мы имеем в нормальной крови, сопровождалось резким нарушением в состоянии сердца. Так, полное удаление всех солей, достигаемое пропусканием через сердце дестиллированной воды, тотчас вызывало остановку сердечной деятельности и полностью уничтожало

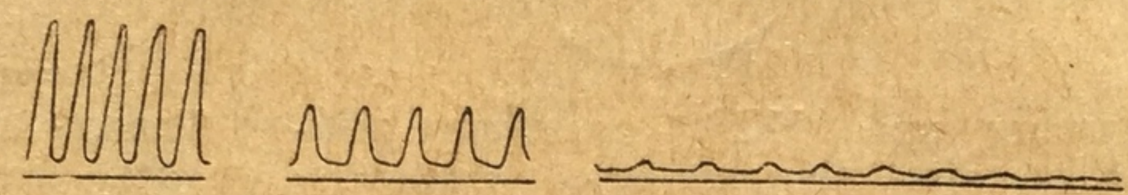


Рис. 24. Воспроизведение записи из опытов Рингера, показывающее неспособность чистого раствора поваренной соли поддерживать сокращения сердца лягушки. Первые сокращения записаны спустя 8 минут после замены крови 0,75% раствором хлористого натрия. Вторая серия сокращений получена после дальнейшего интервала в 6 минут. Последняя часть кривой получена спустя 4 минуты после предыдущей.

возбудимость сердечной мышцы. Таким образом, дестиллированная вода оказывается ядом для тканей. Немногим лучше оказывается и изотонический раствор хлористого натрия, ибо при пропускании его сердечные сокращения тотчас начинают слабеть и вскоре совершенно прекращаются (рис. 24). Все же раствор поваренной соли несколько дольше сохраняет возбудимость сердечной мышцы, чем чистая вода, и если сменить его затем на более подходящую среду, то сокращения сердца снова возобновляются.

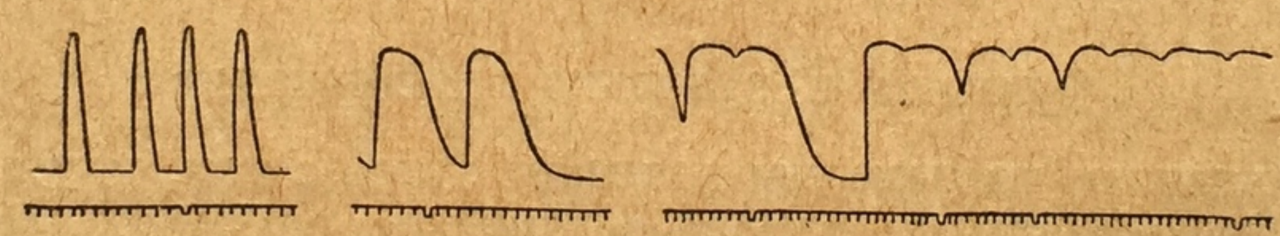


Рис. 25. Кривая (по Рингеру), показывающая, как кальциевые соли вызывают стойкое сокращение мышцы сердечных желудочков. Первые сокращения записаны, когда сердце питалось нормальной кровью. Дальнейшие группы сокращений получены при замене крови раствором хлористого натрия, содержащим небольшое количество кальция.

Кроме натрия, одной из существенных минеральных составных частей крови является кальций; Рингер исследовал поэтому влияние добавления к пропускаемому через сердце солевому раствору небольших количеств хлористого кальция. Собственно говоря, влияние кальция было обнаружено случайно, когда раствор поваренной соли по ошибке был приготовлен на водопроводной воде вместо дестиллированной. Обнаружилось, что при наличии кальция, ритмические биения сердца продолжаются некоторое время, но затем постепенно расслабление сердца все больше и больше замедляется, так что в результате перед последующей систолой не успевает наступить полного расслабления. Это явление все нарастает, и, наконец, сердце останавливается в сокращенном состоянии, полностью утратив способность к рас-

слаблению (рис. 25). Мы должны заключить, что кальций обеспечивает нормальную работоспособность мышцы, создавая условия для ее сокращения.

Далее, поскольку калий тоже является важной составной частью крови, Рингер исследовал влияние добавления калия к физиологическому раствору поваренной соли. Оказалось, что в такой смеси сердце постепенно останавливалось, но на этот раз в совершенно расслабленном состоянии. Обнаружив, таким образом, антагонистическое действие этих двух металлов, калия и кальция, Рингер исследовал, как повлияет одновременное прибавление их к физиологическому раствору. Удалось установить, что если кальций имелся в избытке, то в деятельности сердца наступали характерные нарушения с тенденцией к остановке в сокращенном состоянии, при избытке же калия наступала остановка в диастоле. Но если удавалось уловить некоторое

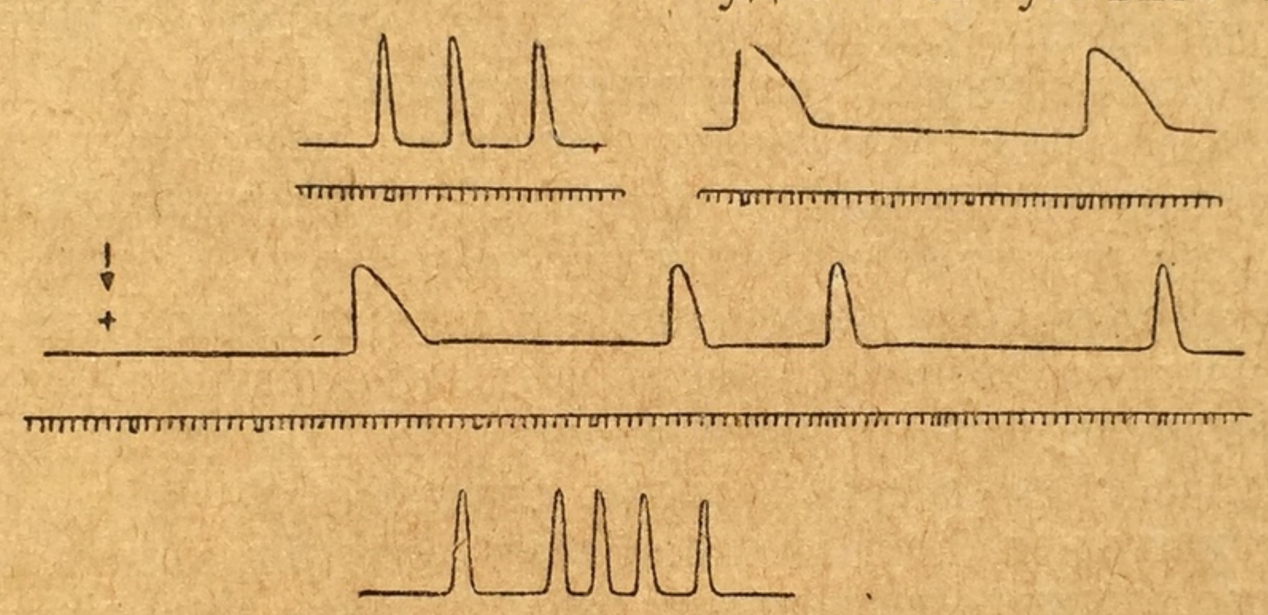


Рис. 26. Антагонизм между кальцием и калием (Рингер). Первые сокращения—при пропускании через сердце крови. Вторая группа—при пропускании через сердце раствора хлористого натрия с добавлением кальция. Видно удлинение систолы, характерное для действия кальция. В момент, отмеченный стрелкой, добавлено небольшое количество хлористого калия. Он уравновешивает действие кальция, и сокращения становятся нормальными. Последняя часть кривой получена спустя 10 минут после прибавления хлористого калия.

определенное соотношение между этими двумя элементами, то сердце не оставалось ни в сокращенном, ни в расслабленном состоянии, а ритмически поочередно сокращалось и расслаблялось на протяжении ряда часов, совершенно так же, как сердце, питаемое нормальной кровью (рис. 26). Такого рода раствор, основой которого служит хлористый натрий, но который, кроме того, содержит небольшие количества хлоридов кальция и калия, оказывается практически нормальной средой не только для сердечной мышцы, но и для живых тканей вообще: раствор этот нашел широкое применение в лаборатории и известен под названием рингеровского раствора. Им пользуются для сохранения в нормальном состоянии тех тканей и органов, которые подвергаются изучению в физиологических экспериментах. Обычно прибавляют еще некоторое количество двууглекислого натрия, чтобы обеспечить слабую щелочность раствора и тем самым еще больше приблизиться к условиям, встречаемым в организме. Из того,

что говорилось выше о значении активной реакции жидкостей для функционального состояния тканей и органов, читатель легко учтет существенную роль этой последней добавки.

Рингер тотчас же установил, что обнаруженные им эффекты получались не только при применении хлоридов калия или кальция, но свойственны всем солям этих металлов. В то время, когда производились эти опыты, теория диссоциации на ионы не была еще так разработана, как в настоящий момент. Теперь мы знаем, что наблюдаемое действие принадлежит не солям, как таковым, а положительно заряженным ионам калия или кальция, отщепляющимся при электролитической диссоциации растворенной соли.

Мы приходим к заключению, что для нормального функционирования изолированное сердце должно находиться в среде, главной составной частью которой является хлористый натрий, но которая, кроме того, должна содержать ионы калия и кальция, притом в таких относительных концентрациях, чтобы их антагонистические действия как раз уравновешивались.

То, что было найдено на сердце, оказалось целиком приложимым и ко многим другим тканям и органам. Для длительного движения ресничек, для развития яиц морских животных, для поддержания нормального состояния получающихся из них животных необходимо то же уравновешивание натрия, калия и кальция. Это в одинаковой мере относится к внешней среде, если дело касается морских животных, и к внутренней среде, создаваемой циркулирующей кровью у наземного животного. Стоит хотя бы слегка нарушить это ионное равновесие, и тотчас обнаруживаются ненормальные и гибельные последствия: организм погибает, сердце прекращает свои биения, а произвольная мышца, которая обычно находится в покоящемся состоянии, теперь начинает выполнять непрерывные некоординированные сокращения, бесцельно растрачивая энергию. Последнее явление легко наблюдать, поместив вырезанную мышцу лягушки в чистый раствор хлористого натрия. Вскоре начинают появляться легкие самопроизвольные сокращения, постепенно усиливающиеся, пока мышца не достигнет состояния истощения, после чего сокращения прекращаются. Прибавление кальциевых солей уменьшает эту деятельность мышцы, понижая ее возбудимость; ионы калия еще увеличивают силу сокращений и, в конце концов, отравляют и убивают мышцу. Но при точно подобранном соотношении всех трех солей мышца остается в покоящемся состоянии, сохраняя в то же время свою возбудимость и сократительную способность иногда на протяжении нескольких дней.

Читатель, внимательно следивший за нашим изложением, теперь может дать себе отчет в тех требованиях, которым должна удовлетворять жидкость, пропускаемая через орган для того, чтобы обеспечить его наиболее близкое к нормальному состояние даже после того, как он удален из тела. Такой раствор должен обладать соответствующим осмотическим давлением, дабы не нарушать состояния тканей вследствие изменения содержания в них воды; он должен иметь требуемую, обычно слабощелочную

реакцию, для того чтобы могущий появиться избыток обладающих столь мощным действием водородных ионов не смог проявить своего вредного влияния; наконец, как мы видели, такой раствор должен содержать ионы металлов натрия, калия и кальция в нормальных, взаимно уравновешивающихся соотношениях.

В своем анализе действия электролитов Рингер пошел еще дальше. Он сделал любопытное и важное наблюдение, что кальций в его растворе мог быть заменен эквивалентным количеством стронция, причем раствор не утрачивал своей способности поддерживать нормальные сокращения сердца. Очевидно, что не кальций как таковой необходим для ткани, но что наблюдаемый эффект обусловлен каким-то свойством, общим как для иона кальция, так и для иона стронция. Барий оказался в качестве замены для кальция значительно менее подходящим веществом, что и не удивительно, если мы вспомним, что в пределах этой группы близких между собой металлов барий в химическом отношении значительно сильнее отличается от кальция, чем стронций.

Точно так же оказалось возможным заменить натрий, составляющий основу физиологического раствора, литием, а калий близким к нему редким элементом рубидием, а в меньшей мере также и цезием.

Эта возможность замены одного иона другим ясно указывает на то, каким образом ионы проявляют свое действие в живых тканях. Оказывается, что отдельные ионы можно расположить в ряды, показывающие постепенное изменение химических свойств и соответствующую градацию физиологического действия; более того, оказывается, что в такие же ряды ионы располагаются по их способности влиять на различные свойства неживых коллоидных систем, вызывая в них осаждение и другие изменения состояния.

Мы поясним сказанное примером. Было обнаружено, что реснички эпителия из пищевода лягушки, будучи помещены в раствор хлористого натрия, вскоре прекращали свое движение. В этом отношении они обнаруживают то же, что мы видели на примере лягушечьего сердца. В растворе хлористого калия они сохраняют свою подвижность несколько дольше, но и тут по истечении некоторого времени погибают. С другой стороны, в растворе хлористого лития реснички утрачивают свою подвижность еще быстрее, чем в хлористом натрии. Если мы исследуем влияние более редких щелочных металлов, рубидия и цезия, то мы можем расположить их по действию в следующий ряд:

$$K > Rb > Na > Cs > Li.$$

Здесь отдельные элементы расположены в порядке убывающей способности поддерживать движение ресничек. Калий, следовательно, является наименее ядовитым ионом, литий же действует всего сильнее.

Если мы теперь исследуем относительную способность этих ионов вызывать преципитацию коллоидального белка, например,

нейтрального раствора куриного белка, то мы обнаружим, что их осаждающая способность, измеряемая по минимальной концентрации, могущей вызвать образование осадка, меняется в следующем порядке:

$$K > Rb > Na > Cs > Li.$$

Литий оказывает наименьшее действие, калий вызывает самое сильное осаждение.

Мы видим, таким образом, что как по отношению к неживому белку, так и по отношению к живым клеткам ресничного эпителия ионы по своему действию располагаются в одной и той же последовательности.

Из этих фактов мы заключаем, что необходимость наличия ионов для поддержания нормального функционального состояния живых тканей обусловлена тем действием, которое эти ионы оказывают на коллоидальные белки и другие составные части протоплазмы. А так как изменения в коллоидных системах зависят прежде всего от несомого ионом электрического заряда, то мы вправе ожидать, что специфическая химическая природа иона при его действии на живое вещество может играть второстепенную роль.

Но если перед нами встает вопрос о том, каким же образом эти ионы действуют, то мы должны ограничиться общими утверждениями, что их физиологическое действие проявляется как результат вызванного ими изменения состояния тех коллоидов ткани, которые к ним оказываются чувствительными. Мы еще далеки от того, чтобы истолковать поведение живого вещества в терминах конкретных биохимических реакций, или процессов адсорбции, или действия ионов на коллоиды. Мы кратко обрисовали здесь некоторые стороны этой проблемы, но в настоящее время наши познания имеют еще характер разрозненных контуров. Нам остается ждать того времени, когда физиология, биохимия и биофизика перестанут быть изолированными отраслями человеческого знания, а смогут быть синтезированы в обобщающую систему, которая дает возможность исчерпывающе изучить явления жизни.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Адениловая кислота 109
Аденин, формула 64
Аденозинтрифосфорная кислота 109
Адреналин, формула 59
Адсорбция 213
— перманганата 213
Азот 6
— кривая выделения мочой 52
— минимальное количество в нормальной диэте 53
— распределение в белке, метод определения 19
Азотистое равновесие 53, 58
Акролеин, формула 71
Аланин 8
— производные 9
— формула 19
Аллантоин, формула 68
Альбумин яичный 6
Альбумины 21
Альбумозы вторичные 23
— первичные 23
Алькаптонурия 38
Амилаза 100, 145
Аминокислоты 6, 7
— дезаминирование 36
— использование в организме 33
— молекула 7
— распад, экспериментальное воспроизведение 37
α-аминокислота 8
α-амино-β-индолпропионовая кислота 10
α-аминопропионовая кислота 8
β-аминопропионовая кислота 8
Амины 162
Аммиак 40
«Аммониевый гемохромоген» 181
Аммоний карбаминовокислый, формула 40
— сернокислый 21
— углекислый, формула 40
Амфолиты 18, 222
— изоэлектрическая точка 230
— кривая ионизации 229
Амфотерные вещества 18, 229
Андростерон 83
— формула 84
Антипепсин 151
Антитромбин 152
Аргинин 41, 69
— формула 41
Аскорбиновая кислота, формула 169
Аутолиз 35
Аутоксидабельные вещества 157
Ацетальдегид 111
Ацетон, формула 116
— обнаружение в моче 117
«Ацетоновые тела» 116
— образование 116, 117
Ацетоуксусная кислота, формула 116

Базедова болезнь 137
Бараний жир, точка плавления 72
Барфэда реактив 87
Белки, биологическая ценность 58
— изоэлектрическая точка 230, 231
— метаболизм 33
— нерастворимость в изоэлектрической точке 230
— обмен, диаграмма 51
— переваривание 27
— растворимость 20, 21
— — схема 26
— роль в процессе восстановления живой ткани 34
— сложные 23
— строение молекул 19
Белковый минимум 54
— рацион 58
Белок, изоэлектрическая точка 210
— «распределение азота» 19
— структура 6
— яичный 6
Бензоилгликокол 172, 173
Бензойная кислота 172
— формула 78
Бензольное кольцо 9
Биливердин 184
Билирубин, формула 183
Биурет 15
Биуретовая реакция 15
Бромбензол 175
Буферные растворы 224

Вещества оптически активные 91
— — — форма левовращающая 92
— — — — правовращающая 92
Вивидифузия 31
— аппарат 31
Виноградный сахар см. Глюкоза
Витамин А 164
— — формула 166
— — химия его 165
— В 163
— B_1, формула 166
— B_2 166
— B_3 167
— B_4 167
— B_5 167
— С 162, 168
— формула 169
— химическая природа его 169
— D 164, 169, 170
— Е 171
Витамины 162
— значение в питании человека 171
Вода, диссоциация 220
— — константа 220
Водородные ионы, концентрация 220
Водородный показатель 221
— — оптимум 151
Высаливание, процесс 21

Газ, давление 194
— — определение 194
Газообмен дыхательный 185
Галактоза 85
Гексозы 85
Гель 209
Гем 23, 176
Гематин 179
— «щелочной» 180
Гематопорфирин 182
Гемин 180
Гемоглобин 23, 176
— взаимоотношения с его дериватами, схема 184
— восстановленный 177
— химическое строение 176
Гемохромоген 180
Гепарин 152
Гетероциклические кольца 9
Гидролиз 15
Гипергликемия 115
Гипоксантин, формула 67
Гиппуровая кислота 172
Гирудин 152
Гистидин 11, 20, 69
— формула 69
Гликоген 44, 102
— процесс распада в молочную кислоту 105
— уравнение окисления 132
Гликокол 7, 172
Глиоксилевая кислота 12
— реакция 12
Глицерин 71
Глицин 7, 44
— солянокислый 18
— формула 19
Глобин 23, 176
— денатурированный 181
— нативный 181
Глобулины 21
Глюкоза 44, 85, 149, 157
— процесс сгорания 131
— формула 89
— — современная 96
α-глюкоза, формула 95
β-глюкоза, формула 95
γ-глюкоза 96
Глюкозурия 114
— алиментарная 114
— почечного типа 114
Глюконеогения 115
Глюкопротеиды 24
Глюкуроновая кислота 175
Глютатион 160
Гомогентизиновая кислота 38
— — формула 38
Гопкинса эксперимент 163
Гуанин, формула 64
Гуанидин, формула 46
Гуанидинуксусная кислота, формула 46
Гумин 19
Гумми-арабик 203

Дегидрогеназа 160
Дезаминирование 36
Декстрины 100
Декстроза см. Глюкоза
Джиллепси метод определения pH 228
Диабет 113
— безобидный (diabetes innocens) 114
— метод лечения 118
— несахарный 114
— панкреатический 116
— сахарный 113
Диабетическая кома 117
Диаминокислоты 8
Диастатический показатель активности фермента 154
Дикетопиперазины 16, 29
Дисахариды 85
— структура 97
— формула 85
Диэтилсульфид, формула 50
Доннановское равновесие 236
Дугласа мешок 139
Дыхательный газообмен, измерение 131
— коэфициент 132, 133, 135, 143
— фермент 160
— центр, функция 233

Желатина 12, 24
— «биологическая ценность» 59
— изоэлектрическая точка 231
— растворимость 25
Желтуха 184
Желчные пигменты 184
— соли 75
— значение 74
Желчь, свойства ее 74
Жидкости организма, реакция их 216
Жирные кислоты 7
Жиры 71
— идентификация 73
— источники для организма 74
— качественная реакция 73
— количественная реакция 73
— метаболизм 70
— механизм всасывания 75
— натуральные 72
— роль в жизнедеятельности организма 77

Закон сохранения энергии 127
Защитный синтез, процесс 172
Зимаза 145
«Золь» 209

Изоаллоксазин 167
— ядро 168
Изоэлектрическая точка белков 210, 230, 231
Имидазол, кольцо 9, 11
Инвертаза 101
Индикан (индоксилсерная кислота), значение 174
— формула 174
Индикатор 226
— «зона перехода» 227
Индоксил, формула 173
Индол, кольцо 10
Инозиновая кислота 110
Инсулин 118
— метод изготовления 118
— механизм действия 120
«Иодное число» 74
Ионизация воды, уравнение 217
— слабых кислот, теория 22

Казеин 24
— изоэлектрическая точка 231
— растворимость 24
Калий 239
Калории, расчет количества, потребляемого человеком 128
Калория 123
Калориметр 124
— Этуотера и Бенедикта 125
Калориметрическая бомба 124
Кальциферол 171
— строение 171
Каротиноиды 165
Карбаминовая кислота, формула 235
Карбаминогемоглобин, формула 235
Карбоксигемоглобин (карбонилгемоглобин) 178
Карбоксилаза 113
Каротин, формула 165
Каталаза 159
Катализаторы 146, 147
Катепсин 35
Кетоз 117, 118
Кетокислота 36, 44
— формула 37
β-кетокислота 80
Кефалин 82
Кислород 186
— избыточный 105
— кривая диссоциации в крови 186
— — — S-образная форма 188, 189
— парциальное давление 186
— перенос кровью 186
— процентное насыщение крови 191
«Кислородная задолженность» 105
Кислота слабая, кривая нейтрализации 223
Кислотно-щелочное равновесие в крови 232
Коагуляция, процесс 22
Коллоидальные растворы 208
— — гидрофильные 209
— — гидрофобные 209
Коллоиды 207
— устойчивость 211
Компаратор 227
Константа диссоциации воды 220
Кофеин 65
Крахмал 99
— переваривание в организме 100
— растительный 99
Крахмалы 86
Крахмальный клейстер 99
Креатин см. Метилгуанидинуксусная кислота
Креатинин 46
— способ определения его 47
— формула 47
— химия 46
Крезол, формула 173
Кристаллоиды 207
Кровь, pH ее 232
Крога аппарат 139
Ксантин, формула 67
Ксантопротеиновая реакция 13
Ксерофталмия 165
Кьельдаля метод 19

«Лаковая кровь» 199
Лактаза 101
Лактоза 85
— формула 98
Лактацидоген 106
Лактофлавин, формула 168
Лангерганса островки 115
— — инкрет, вырабатываемый ими 115

Ланолин 83
Левулоза см. Фруктоза
Лейцин, формула 38
Лецитин 81
— отношение к воде 82
Лизин, формула 60
Лиохромы 167
Липаза 74, 146
Липохромы 167
Ложечная трава (Cochlearia officinalis) 168
Лютеин (прогестрон) 83
— формула 84

Мальтаза 101, 149
Мальтоза 85
— формула 98
Масло оливковое, точка плавления 72
— сливочное, точка плавления 72
Масляная кислота 7, 9
— — формула 72
Меркаптуровая кислота, формула 175
Метаболизм белков 33
Метапротеины 22
Метгемоглобин 179, 181
Метилглиоксаль, формула 107
Метилгуанидинуксусная кислота, формула 47
Метионин 17, 20
Механический эквивалент тепла 124
Миллона реактив 12
— реакция 11
Михаэлиса метод определения pH 227
Мицелла 212
Млечный сосуд 75
Молоко 59
Молочная кислота 103, 104
— — образование в мышце 105, 107, 108
— — формула 107
Моносахариды 85
— формула 85
Моча, составные части 49
Мочевая кислота 67
— — количество у человека 68
— — формула 63
— — химия 61
Мочевина 43
— образование, цикл 43
— происхождение экзогенное 45
— — эндогенное 45
— определение в моче, гипобромитный метод 44
— формула 40
Муравьиная кислота 7, 111
Мурексидная проба 62
Муцин 24
Мыло, химический состав 72
Мышцы, процесс сокращения 103

Нафталин 9
Нуклеин 65
Нуклеиновая кислота 65
— — дрожжевая 66
— — зобная 66
Нуклеопротеиды 24, 61
— растворимость 24
Нуклеотиды 66

Обмен веществ, диаграмма 122
Озазоны 88
Окисление, катализаторы 157
— у животных 158
— — растений 157
β-окисление, процесс 78
Оксиаминокислота 37
Оксигемоглобин 177
Оксидаза 157
β-оксимасляная кислота, формула 116
Олеиновая кислота 71
— — формула 72
Омыление, процесс 72
Оптимум концентрации водородных ионов 151
Оптическая активность 90
— плоскость кристалла 91
Оптическое вращение 91
Орнитин, формула 41
Осмотическое давление 197
— — белков плазмы 201, 202
— — грамм-молекулы 204
— — метод измерения 198, 199
— — прибор для измерения 198
Основной обмен, величина 135
— — — нормальная у женщин 136
— — — — — мужчин 136
— — измерение 137
Остеомаляция 169

Пальмитиновая кислота, формула 71
Парагематин (катгемоглобин) 181
Параказеин 151
pH, метод определения 226
— — — Джиллепса 228
— — — Михаэлиса 227
Пентозы 85
Пепсин 27
— степень активности, метод определения 153
Пептидная связь 14
Пептоны 23, 30, 32
Пероксидаза 157
Печень, роль в процессе пищеварения 36, 37
Пигменты 176
Пиперазин 16
Пиперидин 16
Пиран, кольцо 96
Пиранозы 96
Пиридин 16
Пиримидиновые основания 65

Пировиноградная кислота, формула 36, 107
Пирогаллол 38
Пиррол, кольцо 9
Пища, результат переваривания 208
— явление специфически-динамического действия 142
Пищевые вещества, использование их организмом 33
— продукты, таблица состава 129
Плодовый сахар см. Фруктоза
Полипептиды 14
— искусственные 14
Полисахариды 86, 99
Поляризованный свет 91
Порфирины 182
Почечный порог 114
Почки 233
Пролин 10
Пропионовая кислота 7
Протамины 28
Протеиды 23
Протеины 5
Протопорфирин, формула 182
Протромбин 151
Псевдоглобулины 22
Птиалин 100
Пурин, формула 63
— ядро 63, 69
Пуриновый обмен, схема 70
Пуриновые основания 24, 61, 66

Распределение азота в белке, ван Слайка метод определения 19
Ретикуло - эндотелиальная система 183
Рингера опыт 237
Рингеровский раствор 239

Сахар 66
— анализ качественный 89
— — количественный 89
— солодовый 85
— тростниковый, особенности строения молекул 99
— — формула 99
Сахара 85
— категории 85
— редуцирующие свойства 86
«Сахарный укол» 115
Селиванова реакция 87
Сера 16, 19, 49
— нейтральная 50
Сернистый натрий 17
«Склеропротеины» 29
Слайка метод определения «распределения азота» в белке 19
Слюнная железа, работа 204
Смола гваяковая 157
Солевой раствор 200
— — изосмотичный 200
— — изотоничный 200
Спектр поглощения 177
— — фраунгоферовые линии 177
«Стеапсин» 74
Стеариновая кислота, формула 71
Стеркобилин 184
Суспензоиды 209

Таутомерия 64
Тепло, механический эквивалент 124
Тестостерон, формула 84
Тиоспирт (меркаптан) 17
Тирозин 9, 38
— формула 39, 59, 173
Тироксин, формула 60
Тканевой метаболизм 47
Триолеин 72
Трипальмитин 72
Трипсин 27, 118
— активный 28
Трипсиноген 27
Триптофан 10
— формула 173
Тристеарин 72
— дыхательный коэфициент 133
Тромбин 151
Тромбокиназа 82, 152
Тростниковый сахар (сахароза) 85, 87

Углеводный обмен, патология 113
Углеводы 84
— обмен в мышце, схема процесса 110
— роль их в организме 101
— — как источник энергии мышечного сокращения 103
— формула 84
— химические свойства 86
Углекислота 191
— кривая диссоциации в крови 192
— перенос кровью, исследование 191
— процесс выделения из бикарбонатов 235
Угольная кислота, формула 40
Уксусная кислота 7
— — формула 38
Ультрамикроскоп 209
Уреаза 44
Уриказа 68
Уробилин 184
Урохром 184

Фелингова жидкость 86
Фенил, кольцо 8
Фенил-аланин 8
— — формула 20
— -гидразин 88
— -глюкозазон, точка плавления 88
— -изокротоновая кислота, формула 80
— -лактозазон, точка плавления 88
— -мальтозазон 88

β-фенилмасляная кислота, формула 78
β-фенилпропионовая кислота, формула 78
β-фенил-уксусная кислота 38
— — формула 78
Фенол, формула 173
Фермент, желтый окислительный 161
— -субстрат 155
— — природа соединения 156
«Ферментные яды» 151
Ферменты 144
— активность 151
— метод обнаружения их 152
— механизмы действия 154
— «неорганизованные» 145
— «организованные» 144
— обратимость действия 149
— специфичность 149
— термолабильность 150
Физиологический раствор 200
Флавин 161
— химия его 167
Флоридзин 114
Фолликулин (эстрон) 83
— формула 84
Фосфаген 108
Фосфатиды 82
Фосфоглицерин, формула 107
Фосфоглицериновая кислота, формула 107
Фосфоглицериновый альдегид, формула 106
Фосфодиоксицетон, формула 106
Фосфокреатин 108
Фосфопировиноградная кислота, формула 107
Фосфорная кислота 66
Фосфотриозы 106, 107
Фрауенгоферовы линии спектра 177
Фруктоза, строение 97
Фруктозодифосфат, формула 106
Фульджера реактив 87
Фуран, кольцо 96
Фуранозы 97

Химозин 150
Хилус 75
«Химус» 27
Хлористый аммоний 18
— натрий 237, 238
Хлорофил 183
Холестерин 82
— формула 83
Холин 81
— формула 81

Цвиттер-ионы 230
Целлюлоза 86
Цистеин 17
Цистин 16, 17, 49
Цитохром 160
Цитохромоксидаза 160
Цитруллин, формула 42
Цынга (скорбут) 162
Цынготная травка 168

Шардингера фермент 158

Экковская фистула 43
Электролиты, значение их 237
— функции 237
Эмульсоиды 209
Энергетический баланс, измерение 134
Энзимы см. Ферменты
Энтерокиназа 27
Эргостерин 83
— формула 170
Эрепсин 28
Эстер 70
Этилацетат, формула 70
Этиловый спирт 17
Эфир сложный 70
Эфиросерные кислоты 174

Янтарная кислота 111

й 18
8

160
ула 42
62
168

ент 158

а 43
ение их 237

аланс, измерение

енты

мула 70
7

лоты 174

а 111

ОСНОВЫ БИОХИМИИ В ПРИЛОЖЕНИИ К ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА